Ano 1922

Tomo XV

Faciculo II

Translations

MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Manguinhos

The Discovery of Trypanosoma Cruzi and of American Trypanosomiasis

Historic retrospect

by

DR. CARLOS CHAGAS

Directeur of the Instituto Oswaldo Cruz.

The discovery of american trypanosomiasis and chiefly the methods of reasoning which led to definitive results, furnish a new line of action for conducting similar research-work yet to be undertaken with a view to solving other obscure problems of human pathology.

This biological observation was carried out in a way completely different to that usually employed in recognising the etiology and pathology of diseases or in describing new ones. Furthermore, as in this discovery there are to be found interesting aspects and incidents which may be of use to other research workers, there follows an exact and minute description of the facts especially those concerning the more important points.

The discovery of the parasite here preceded the recognition of the disease and when in the blood of a feverish child I found the pathogenic trypanosome I had already acquired a complete notion of its biology.

But for greater clearness it is more advisable to expose the facts in their uninterrupted order :

As a consequence of the outbreak of a malaria epidemic amongst Government workmen on the Central Railway of Brasil, in the valley of the Rio das Velhas (State of Minas Geraes) the Minister MIGUEL CALMON applied to OSWALDO CRUZ for steps to be taken. OSWALDO CRUZ immediately complied, intent as he was on proceeding with the anti-malarial campaigns succesfully undertaken in other parts of the country and decided to entrust me with the sanitary measures.

Together with Dr. BELISARIO PENNA whom I invited to be assistant in this commission, I started out for the interior of Minas Geraes and installed

myself on the banks of the Rio Bicudo where the works on the railroad lingered belated by the epidemic. The malaria prophylaxis was untertaken with the most satisfactory results and regular work on the railroad was once more begun.

We remained more than a year in this region without becoming aware of the existence in the local huts, of a blood-sucking insect known popularly the name of *barbeiro, chupão* or *chupança*. By this time we had already had the opportunity of carrying out locally a good deal of clinical observation and of studying a great number of cases not only amongst those subject to malarial infection, in the valleys of big and small rivers but also among the inhabitants of mountainous regions who were entirely exempt of this disease.

And from that time on, experimental laboratory methods and the most careful semiotic consideration of the cases were alike of no avail in diagnosing some of the cases submitted to us. In these there remained unknown something new in the dominion of pathology to stimulated our curiosity.

On a journey to Pirapora and while spending the night in an engineers' camp Dr. BELISARIO PENNA and I first made the acquaintance of the *barbeiro*, shown to us by Dr. CANTARINO MOTTA, chief of the engineering committee.

Once we had heard of the blood-sucking habits of this insect and of its proliferation in human dwelling-places, we became very interested in knowing its exact biology and above all in ascertaining if by any chance it were as I immediately supposed, a transmitter of any parasite of man or of another vertebrate.

The rôle of several blood-sucking insects in the transmission of human diseases and of several trypanosomiases of mammals, directed my line of thought and led me to obtain some more specimens of the insect, so as to search for the parasites which it might harbour in its digestive tube and salivary glands. Dissecting the insect, *I found in the posterior intestine of each one numerous flagellates with the appearance of crithidias*. This fact elicited two hypotheses: either the flagellate was a harmless natural parasite of the insect, or else it represented a stage in the evolution of a hæmo-flagellate of some vertebrate perhaps even of man.

Previously I had found a new species of trypanozome in the monkey Callithrix (Callithrix penicillata) and given the frequency of the infection of monkeys by *Trypanosoma minasense*, the species I described, I supposed the crithidias seen in the intestine of the *barbeiro* to be a phase in the evolution of this trypanosome which would then be transmitted by the insect. And as all the monkeys of the region proved to be infected the experiments of transmission with the purpose of confirming this hypothesis could not be carried out for obvious reasons. For this reason I sent some of the insects to my unforged table chief OSWALDO CRUZ, so that they should be allowed to suck healthy monkeys of the genus *Callithrix*. 20 or 30 days later when once again back in Manguinhos, I examined the blood of one of these monkeys that had been sucked by barbeiros and *found in it a trypanosome*, which at first sight and before examining it by the technical methods I took to be *Trypanosoma minasense*. After having seen the flagellate alive, between cover-glass and slide I made some fixed and stained preparations in which it was seen to show characters entirely distinct from those of *Trypanosoma minasense* and to show no similarity to any other trypanosome. It was undoubtedly a new species whose chief character lav in its blepharoplast, the biggest I had yet seen and located at the hind end (the end opposed to the free flagellum).

After having studied the new parasite's morphology I started to work on its biology. In repeated experiments, I obtained new laboratory infection not only in monkeys of the genus *Callithrix*, but also in guinea-pigs, rabbits and puppies. These infections were obtained in some cases by the stinging of the insect but mostly by inoculation of the flagellates taken from its intestine. Lengthy experiments thus allowed me to characterise the trypanosome as a new species and to established the part played by the *barbeiro* in its transmission. Besides this I made sure of the pathogenic properties of the trypanosome which brought about the death, in a variable period, of small laboratory animals, generally by septicæmia and without the disappearance of the parasite from the peripheric circulation. The remainder of the experiments I carried out related to the double evolutive cycle of the trypanosome in the vertebrates and in the insect transmitter, the forms of evolution in the intestine of the *barbeiro*, the artificial cultivation of the protozoon etc.

And it was then after having acquired ample knowledge of the parasite, in its morphology, general biology and pathogenic action that I undertook the second part of my research-work that was to give the more remarkable results as regards human pathology.

To the new species of trypanosome I gave the name of Trypanosoma Cruzi, in honour of my unforgettable leader, to whom I owe everything in my scientific career, and who in these studies was to me the most broad-minded of counsellers: to the impersonation of scientific capability and kindness, always ready to let me partake of the benefits of his knowledge and to harbour me in the warmth of his friendship. What little work has been accomplished by me in my professional career is more his than mine, and what there may be of useful in this work I attribute with pride and sincerity to the value of his teaching and to the example of his high faith, to that decisive sway of his strong personality and great abnegation upon all those who had the good-fortune to encounter him during their lifetime and to reap the benefits of that influence that shaped their careers.

This is the exact truth concerning the discovery of *Trypanosoma Cruzi*, known up to this point only as a parasite of a vertebrate of unknown species and transmitted by the sting of an insect. The latter was determined as Triatoma megista BURM. by Dr. ARTHUR NEIVA who in lengthy studies described its whole biology.

In this first period of our work the most interesting point was the observation of a hemipteron as a transmitter of parasites. This observation was far-reaching as regards general biology and was by itself a scientific fact of real importance.

I will now proceed to describe the discovery of *Trypanosoma Cruzi* in man and the observation of the new disease.

Returning to the triatoma-infested regions, it became my object to ascertain the vertebrate host of *Trypanosoma Cruzi*, inasmuch as the monkeys and laboratory animals I had worked upon were all of them experimentally infected and did not demonstrate the ordinary host of the parasite.

The difficulty of interpretation of the local clinical cases together with the supposition based on careful observation and lengthy research-work of the existence of a pathological condition that escaped identification with any established disease, facts which I had reflected on for some time and which made me suppose an unknown eticlogic cause, became the starting-point for the work I then undertook. To add to this was

the primary circumstance of the triatoma's being a domestic insect with habitat, perhaps confined to human dwelling-places, and preferring to nourish itself on human blood during sleep. Under these circumstances, and to judge by the biology of blood-parasites it was to be admitted that the flagellate of the intestine of the blood-sucker, whose food is chiefly human blood, should undergo a gradual adaptation to the blood-medium and, at a given moment of its philogenetic evolution, become a parasite of man. Up to this point I was frankly in the realm of hypotheses, undoubtedly based on exact biological reasons but that nevertheless still awaited confirmation. Furthermore I was at that time unaware of the important fact that even in uninhabited regions, armadilloes *(Tatusia novemcincta)* are frequently infected with *Trypanosoma Cruzi*. This observation, completed by the finding of *Triatoma geniculata*, infected with trypanosomes in armadillo-holes led me to the conviction, justified by various arguments that the natural and ancestral host of the parasite is really the armadillo and that the human infection is the result of a later adaptation.

This point of view hardly to be opposed, since it has in its favour positive facts of observation as well as undeniable biological arguments, would explain the existence of infected triatomata in regions were the disease is unknown. As a matter, of fact, some people, with the curious object of denying *Trypanosoma Cruzi* any pathogenic action, state that the *barbeiro* has been found in some regions of Brasil and other countries carrying in its digestive tube flagellates that could be inoculated into small laboratory animals and that nevertheless the disease had not been reported in these regions.

Now, in the first instance it would be advisable to relate the clinical and experimental researches proving the inexistence of the disease, whose parasifological diagnostic is not an easy matter and as a rule is possible only post-mortem. And as for acute cases, to happen upon them it would be necessary to remain some time in the region. It would be of more use in excluding the existence of trypanosomiasis to carry out minute clinical observations based on an exact knowledge of the symptoms that characterise the different forms of the disease. Only after this had been done could one claim, that in this or that country, in one or another region, there were triatomata infected with parasites that could be inoculated in small laboratory animals without there having been observed any human infections.

But granting the opinion of those who disbelieve in american trypanosomiasis, unless we want to deny the existence of the disease altogether, which would be absurd in view of the exactness of the clinical observations, the post-mortem findings, and the experimental results, demonstrating in full the scientific interest and social importance of the disease, we are obliged to accept the above-mentioned apparently contraditory fact, taken from my conclusions, namely that in these regions the adaptation of the trypanosome to man is not yet accomplished and that the races observed in the blood-sucking transmitter are not virulent for human beings. In any case this is a question in itself, but under no circumstances will it be possible to find bona-fide and logic arguments to displace the evidence of facts acquired by observation and experiment.

It was along these lines, that I started a new phase of my work by searching for trypanosomes in those patients for whose disease I had found no interpretation.

At first all attempts gave constantly negative results a fact which was later explained by the absence of parasites

in the peripheric circulation and their existence in the tissues of these patients. My observations were made in human dwelling-places abundantly infested by triatomata. In one of these I found a cat evidently ill and in whose blood upon examination, was found *Trypanosoma Cruzi*. This did not, however, allow of a definite conclusion, since the cat, being a domestic animal, passes the night in human dwelling places and is consequently exposed to being sucked by the insects, so that its infection could be no surprise. And besides, from later examinations I came to the conclusion that the cat is a reservoir for trypanosomes, and for this very reason a factor in the spreading of the disease.

Pursuing my work, and I must admit I did it with a well-founded certainty of success, I had the chance of finding in a feverish condition a child from the house in which I had found the infected cat. Now, a fortnight or twenty days before, I had spent a night in the house and had seen a great number of insects stinging the dwellers including the little girl who now lay feverish and who at the time had been in perfect health.

Among the chief clinical symptoms of this child, whose fever had come on some eight or ten days before examination, where the following: Axillary temp. 40°C.; spleen enlarged and to be felt under the edge of ribs; liver also enlarged; groups of peripheric lymphatic glands swollen etc. Most noticeable was a generalised infiltration, more pronounced in the face, and which did not show the characters of renal œdema but rather of myxœdema. This last symptom, which I later found to be one of the most characteristic of the acute form of the disease, already then revealed some functional alteration of the thyreoid gland, perhaps affected by the pathogenic action of the parasite.

Examination between cover-glass and slide revealed the existence of flagellates, in good number and the fixing and staining of blood-films made it possible to characterise the parasite's morphology and to identify it with Trypanosoma Cruzi, first seen in crithidia-form in the intestine of *Triatoma* and transmitted by the sting and by inoculation of the flagellates taken out of the intestine, first to the monkey Callithrix *(Callithrix penicillata)* and then to several small laboratory animals.

Thus was proved the existence of a new trypanosomiasis of man. This was the second one known; its parasite showed well defined morphologic and biologic characters distinguishing it from any other known trypanosome. The transmitter of the new disease as shown by undeniable laboratory experiments was a heteropteron of the genus triatoma, *Triatoma megista*.

There remained now to be carried through careful studies as to the pathogenesis, symptomatogy epidemiology and geographic distribution of the new disease which I had discovered in its acute form. Was it always like this or did it show well-defined chronic forms ? My clinical experience and knowledge of the unusual diseased condition of local inhabitants led me to admit that in this trypanosomiasis, besides the known acute form, other chronic ones awaited detection and description.

I was only able to take up again these researches some months later, with the clinic and epidemiologic problems of the disease, up to then almost entirely obscure, now as my object. In this also my knowledge of the local nosology, in which I had come upon conditions impossible to understand, was of great use to me. Returning to the study of the disease with a better grasp of the problem, I tried to systematise the facts so as to get a starting-point for possible generalisations. Among the symptoms what most impressed me was the fre-

quency of alterations in the rhythm of the heart-beat among the local inhabitants especially among those who lived in *triatoma*—infested houses. This was extremely common and generally took the form of extrasystoles frequently with slow pulse. I must mention that in view of the anatomical alterations of the thyreoid commonly observed in these patients, either as a great hypertrophy or as an almost inappreciable enlargement of the gland, I at first believed these cardiac perturbations to be ascribable to goitre.

Soon, however, I made sure that patients showing an unrhythmic heart-beat had not infrequently a normal thyreoid. About this time I got the opportunity of practising a post-mortem on a child in whom I had diagnosed the acute form of the disease with trypanosomes in the peripheric circulation. The material I obtained I sent to the Instituto Oswaldo Cruz where it was examined by the regretted GASPAR VIANNA, whose high technical ability and great competence in the field of pathological anatomy were of the greatest help to us.

GASPAR VIANNA described, within the cardiac fibres of the child's myocardium some very curious parasitical forms, very numerous and taking the form of actual kysts. Similar aspects of the parasite were observed in other organs.

There was at the time, as I heard from OSWALDO CRUZ, some doubt as to the interpretation of there parasitic forms, VIANNA believing them to be special stages of *Trypanosoma Cruzi*. All doubts were dispelled, however, when, at Lassance, OSWALDO CRUZ, showed me sections and smears from the myocardium, in which I recognised parasitic forms identical to those I had obtained in artificial cultures of the trypanosome. No doubt could be left over, therefore, as to VIANNA's observations of the localisation of the trypanosome, under a special form in the myocardium, within the muscle-fibres. This furnished the acceptable interpretation to one of the most frequent clinical symptoms of the disease, disturbance of the rhythm of the heart. The histopathological results of the first autopsy were so interesting that OSWALDO CRUZ decided to become better acquainted with my work and made with this purpose the fatiguing journey to the interior of Minas Geraes where he remained for a week in the enthusiastic appreciation of the clinical cases and experimental facts which were opening a new chapter in human pathology.

I must here allude to a cause of error in the first laboratory work for the diagnostic of the disease.

In the earlier studies on *Trypanosoma Cruzi* I had connected with the evolutive cycle of the trypanosome in vertebrates, special forms found with great frequency in the lungs of infected guinea-pigs. It was from this interpretation, in which I had the assent of PROWAZEK and MAX HARTMANN, that came the forming of the genus *Schizotrypanum* in which to place the new species of parasitic flagellates. In view of this observation I for some time made use of these forms founds in the lungs of the guinea-pig as a factor in the diagnostic of patients whose blood had been inoculated in guinea-pigs. It was later observed, first by Prof. CARINI and DELANOE and then by some research-workers of the Institute, that the parasitic forms from the lungs of the guinea-pig hady nothing to do with *Trypanosoma Cruzi* and were really another parasite, *Pneumocystis*. This parasitologic diagnostic was thereby rendered valueless and we had to base on other grounds our opinion regarding the chronic forms of the disease. Numerous post-mortems in which the parasites were seen localised

in different organs and the lesions for which they are responsible amply justified the clinical diagnostic of the different forms of the disease by establishing beyond doubt its cause.

But to proceed to the detail: Of the acute forms of the disease, characterised by the easily observed existence of the trypanosome in the peripheric circulation within a short period. I obtained several clinical observations to which no objection can be made.

As to the chronic forms, my conclusions were no less conclusive, based as they were on a great number of post-mortems with parasitological and at the same time histo-pathological study. Of the clinical cases in which cardiac symptoms dominate, I quickly obtained a great number of observations and also several post-mortems. In the latter the uniformity of the lesions of the myocardium and the constant occurrence of the parasite in it founded on anatomical reasons the diagnostic of chronic cases, carefully studied while alive. The clinical diagnostic of these lesions became one of the characteristics of the new disease. Recent researches of CROWELL prove that the cardiac lesions in american trypanosomiasis can be recognised independently of the finding of trypanosomes and are to be considered as a well characterised specific lesion.

Contrarily to what those who say we only know a few cases of american trypanosomiasis, a patient with dominant cardiac symptoms is, according to the acceptation of the disease, infected with *Trypanosoma Cruzi:* besides the rhythm other symptoms indicating lesions of other organs can be found. And judging the number of cases by the cardiac forms our opponents would certainly admit that there has been no exaggeration in estimating as very high the number of endemic cases.

The ascertaining of the nervous forms was also based on clinical observation and post-mortem findings of undoubted value. The numerous cases of cerebral diplegia, of organic idiocy, of monoplegias, of aphasias etc., observed in the regions where we worked had long since impressed me. The first supposition of syphilis to which these lesions might have been attributed was quickly dispelled by all clinical and laboratory methods of syphilis-diagnostic. And contrarly to the fallacious tradition, this disease is an extremely rare occurrence amongst the inhabitants of the interior, where it is taken only by new comers from more civilised and contaminated zones. In another publication we will speak of this subject proving that in the remote zones of the interior syphilis remains unknown unfil it is introduced with the advent of the railways.

Could the nervous phenomena be attributed to endemic cretinism as KRAUS later proposed? Certainly not, since under the most strenuous observation, they were far from showing, what several authors have considered to be the classical nervous manifestations of cretinism. And this is not a question to solve by hypotheses but rather by the surer methods of pathological anatomy.

The first post-mortem was carried out on a case of cerebral diplegia that had lasted for 22 years. According to information given by the family, the subject had been paralytic since she was 3 years old and had suffered from organic idiocy with excitable phases. Death ensued from accidental burning. Autopsy showed the existence of trypanosomes and well defined cerebral lesions distributed in foci. Histo-pathological studies carried out by GASPAR VIANNA left no doubt as to the etiological cause of the nervous phenomena studied. After this, other post-mortems followed and among them those of cases of acute me-

nyngo-cephalitis in which the seat of the parasite in the brain and the lesions produced amply justified the recognition of a nervous form of the disease, casting light on numerous obscure points of the local nosology.

This precludes the basing on sound scientific reasoning of the denial of nervous forms of the disease, with disturbances affecting motility, intelligence, speach etc. and the great number of cases of paralysis, organic idiocy, aphasia, observed in *triatoma*—infested regions cases which reproduce the symptoms of those which were submitted to post-mortem examination, and must consequently be attributed to the same etiological cause. As an additional confirmation of this way of thinking, experiments made by EURICO VILLELA and MAGARINOS TORRES elicited paralyses in dogs and monkeys with the consecutive finding of the trypanosome and lesions in the central nervous system.

Infantilism and other dystrophies frequently seen in the regions where the disease is endemic, I ascribe to infection by *Trypanosoma Cruzi,* either as a residual form from infection in first childhood or what is still more probable as a consequence of hereditary infection. Are there any reasons wanting for conviction? How but by logical deduction from facts has syphilis been connected with infantilism? *Trypanosoma Cruzi* like the treponeme is found localised in the different organs of the endocrinic system whose rôle in the general phenomena of development: os no longer contested. In the adrenals of man and of experimentally infected animals for instance, the trypanosome and the lesions it produces have been amply demonstrated. The same, as regards testicles, ovaries and the thyreoid gland. And if these react, as has been observed, it is logic to admit the physio-pathological consequences of these anatomical alterations. Here also recent experiments of EURICO VILLELA are being of great value. E. VILLELA observed new-born puppies of an infected mother wither hereditary cephalitis and trypanosomes.

This subject, which needs detailed explanation, cannot be gone into fully in this work, in which I only desire to outline the essential motives for my convictions concerning infantilism and other dystrophies of the regions in which trypanosomiasis is endemic.

In the first phase of our work we took trypanosomiasis to be the cause of the *endemic goitre of the regions where the disease prevails.* The reasons we had were based, some of them on the pathogenesis, others on the epidemiology and geographic distribution of trypanosomiasis. At first, the frequency of goitre or of a simple alteration in the thyreoid with partial hypertrophy of some of its lobes in patients with other symptoms called my attention. What further impressed us was the infiltration observed in all acute cases and having the characters of myxœdema. This was a constant symptom in the the first phase of the infection, and was to be considered as a myxœdematous infiltration peculiar to trypanosomiasis and expressing the part the thyreoid played in the pathogenic process. Posterior examinations on acute cases showed the seat of the trypanosome in the gland, right inside the vesicular cells, and also showed the inicial reaction-processes that characterise the formation of the stroma. Furthermore a prolonged observation of some patients, from the acute phase, permitted to follow the progressive development of the goitre, which in some subjects attains a considerable size, while in others it limits itself to hypertrophy, complete or partial, of the thyreoid. The absolute absence of goitre in acute cases and the existence of it in children of the same age that might have got infected earlier were another argument

in favour of this way of thinking. Other reasons were of a pathogenic and epidemiologic order. Regarding the geographical distribution of goitre my experience like that of my informers, was that goitre was constantly seen in *triatoma*—infested regions and unknown in those where the insect is not found. And in the regions where we studied, persons, among them children, without any hypertrophy of the thyreoid and living in houses in which there where no triatomata where common whilst those living in infested houses all showed goitres or hypertrophied thyreoid glands. The high percentage of goitre in the rural huts, even in the ones round the cities and the absence of any lesions on the glands of the towns and villages the people dwelling in good houses, which do not offer the *barbeiro* favourable conditions for its proliferation, cannot fail to strike one. The factors usually held to be responsible for endemic goitre, among them the drinking-water, were excluded in this case seeing that both the persons who had goitres, chiefly the children, and the persons who living under the same conditions, using the same food, had no goitres and lived in houses in which there were no triatomata. These facts as well as many others which I do not refer to in this work, lead me to consider the goitre as one more element of the disease *in trypanosomiasis—regions*. And up to now no definitive proof to modify our point of view in regarding the goitre as part of trypanosomiasis in the parts of the country in which this disease is prevalent. Yet, as we cannot give a positive demonstration for this as we gave for other aspects of the disease in 1916 at the time we were synthetising the pathology of the disease, we will consider the goitre a question apart, on the subject of which there may exist diverging opinions. And on this footing we stand as regards this discussed point, while we await research-*w*ork *w*hich will displace our way of thinking or will confirm it in a positive way.

Of late there has been a tendency, with a view to admitting the infectiousness of goitre, towards attributing the goitre to a filterable virus. And here I must point out that I think it absurd to consider only one etiologic cause of goitre, seen in different parts of the world and having very varied physio-pathological consequences.

Concerning opinions on the etiology and pathogenesis of goitre, and specially in trypanosomiasis as its cause I might give some lengthier arguments based on the epidemiology and geographic distribution and based also on the physio-pathology of endemic goitre in the regions in which I studied it. I will, however, return to the subject in later publications.

Serum against the Epithelioma or Diphtheria of Birds

by

Dr. H. Marques Lisboa.

Concerned for more than ten years with the study of various diseases, caused by filterable germs, of more special interest to veterinary medicine, I became convinced that these germs form a quite homogeneous group, the important characters of which are to be found in the conditions of parasitism and may be considered in a synthetical manner in the following way:

1º. All filterable germs are obligatory parasites, that is may only manifest vital activity when inside a host, although able to remain, in a state of latent life, outside the organism. The cultures, which may sometimes be obtained in special culture media, are short-lived and therefore are not to be found amongst the collections of the most prominent institutes of research however complete they may be.

2º. They are very exacting as to the choice of their host: hog cholera is exclusively confined to porcines, foot-and-mouth disease can be transmitted easily only to artiodactyla, and contagious epithelioma even presents difficulties with regard to its transmission from one species of birds to another.

3º. In the cases were they are not observed to be so particular (rabies, cow-pox etc.) the germs are more liable to undergo mutations: *virus fixe*, vaccines, etc. The race thus obtained has vaccinating properties, and no other method for obtaining vaccines can be applied, seeing that the methods used for attenuating bacteria usually prove very unsatisfactory in this case.

4º. The morbid symptoms which they cause are usually intensified by association with bacteria generally of small pathogenic activity: for instance a paratyphus bacillus or a pasteurella plays a role in the pulmonar or intestinal form of hog-cholera (swine-plague); in pox a streptococcus, in the epitheliothelioma of birds a staphylococcus, and so forth.

5º. The attack the organism suffers when it does not prove fatal, causes immunity, at times of a very lasting kind, as in pox, epithelioma of birds, yellow fever, etc., at others of very short

term, as in the case ot foot-and-mouth disease.

6°. The animal species, which are sensitive to the germ, produce sera of a very real preventive value: thus serum active against foot-and-mouth disease can only be obtained from cattle and porcines; serum against hog-cholera only from sheep, and so forth.

This last character is one of those which are still rather uncertain in medical and veterinary litterature; it is in this way that, in the case of the contagious epithelioma of birds, the conclusions are categoric and deny the serum any preventive or curative properties. To sustain this last assertion, i. e. "that sensitive species produce a preventive serum", the first indication was to control the experiments of other research-workers on this subject, by repeating them, avoiding causes of error which might have left margin for the obtaining of negative results. That was the reason for the undertaking of this work.

Research work carried out at our Station showed that, here as elsewhere, these errors had been of dual nature; insufficient doses and a pseudo-superimunisation.

A) *Insufficient Doses.* There is a general tendency to carry out the investigation of sera with insufficient doses, a fact which frequently leads to the denying of any value to antibacterian and antitoxic sera of great curative value, such as the one against bubonic plague, tetanus, etc. In the cases of the filterable germs MOUSSU, in preparing serum against foot-and-mouth disease by injections of virulent blood, obtained a serum certainly efficacious, but tried its effect with 50 cm³ which in this case must surely have corresponded to one third of the efficient dose. On the other hand, when the research-workers use considerable doses the results are positive in foot-and-mouth disease as in diseases produced by other filterable germs, unless another cause of error intervenes.

In vaccination, REYNAUD, among others, was able to immunise calves with 250 cm³ of a convalescent's serum; and STRAUSS, CHAMBON and MÉNARD, with more or less a litre. (Possibly an intense super-immunisation might reduce this dose to its tenth part; in another publication we will return to the subject). KUNIO SATA ascertained the formation of antibodies in rabbits inoculated either cutaneously or in the cornea.

In sheep-pox, DUCLERC immunised the animals with 190 cm³ of cured sheep's serum and BORREL was even able to obtain serum of practical use, immunising with a dose of 15 to 20 cm³.

In foot-and-mouth disease, various research workers verified that the serum of animals, that had recovered from the disease, immunised at the dose of a litre and LOEFFLER, super-immunising cattle, reduced the preventive dose to 100 to 150 cm³, a dose which can be further reduced to less than 80 cm³ without concentrating the serum.

In Cattle Plague, a few hundred centimetres of the serum of a convalescent animal are already of use in the prevention of the disease, but KOLLE and TURNER, NICOLLE and ADIL BEY and others, by means of superimmunisation, reduced this dose to about 20 cm³

In hog-cholera, the serum furnished by superimmunised animals is of the most potent kind since it prevents infection when employed in doses of less than 10 cm³, but as in the case of all the other sera against filterable microorganisms, its curative properties are practically non-existent, and only demonstrable by the use of enormous doses right in the beginning of the disease.

In chicken pest, JOUAN and STAUB were able to immunise chickens with less than 1 cm³ of serum obtained from chickens.

In rabies (hydrophobia), BABES was invariably able to protect dogs by means of serum obtained from dogs; MAGALHÃES was able to protect oxen with ox serum (unpublished work carried out at the Experimental Station of Bello Horizonte, Minas Geraes). Homologous sera are, as LOEFFLER and others had already ascertained, always more potent than heterologous ones.

In the case of diseases exclusively affecting man, the verification is more difficult as it entails superimmunising convalescents, however:

In poliomyelitis acuta, FLEXNER and LEWIS, LEVADITI and LANDSTEINER cured monkeys with the sera of convalescents and of superimmunised monkeys; NETTER, GENDRON and TOURRAINE, NOBE'COURT and DARRE', FLEXNER and AMOSS obtained favourable results in patients on whom they employed big doses of the serum of convalescents;

In small-pox, PROWAZEK and ARAGÃO indicated the efficacity of twelfth-day serum against the virus; superimmunisation would certainly give more positive results.

In yellow fever, MARCHOUX, SALIMBÉNI and SIMOND ascertained that the serum of convalescents is endowed with undeniable preventive properties and perhaps even with some therapeutic ones.

In scarlet fever, EMIL REISS besides others, obtained good results, even in unfavourable cases, by injecting intravenously 100 cm^3 of convalescent's serum before the fourth day of illness.

B) Pseudo-superimmunisation, i. e., the collecting of serum of patients while they are still ill.

The virus-carriers or rather the persons that eliminate or expel virus *(Virusausscheider)* appear to be ill in all cases, even if the chronic symptoms should be of little account. This fact observed by different authors in the case of foot-and-mouth disease, is easily seen in the case of epithelioma of birds.

A fowl apparently recovered from the illness, nourishing itself plentifully, laying eggs, is considered completely recuperated; on the other hand, if we put it under close observation, we can notice that every now and then it shows a brief shaking of the head. This fowl suffers from a slight chronic coryza, and both the cerebro-spinal fluid and the blood are infectious. In such a case one may think of an *immunitas non sterilisans,* seeing that one obtains an infectious serum.

In order to verify the uncertainties pointed out, several studies were undertaken at the Station. The results obtained with the epithelioma or diphtheria of birds, which offers greater facilities for experimental work may already be published.

When one has to deal with a great number of chicks and fowls infected with epithelioma, one can no longer doubt its identity with the diphtheria of birds.

Not only do all the chicks show more or less marked symptoms of diphtheria in the period to which death ensues, but it is also frequent for diphtheric patches to appear in the course of the development of the epithelioma; besides this it is not altogether uncommon for inoculations to call forth only diphtheria. In fowls subcutaneous or intraperitoneal inoculations of big doses of epithelioma usually provoke diphtheria.

Besides this proof based on inoculation, which had been previously studied by S. VON RATZ and by UHLENHUTH and MANTEUFFEL (1910), the serological proofs which I will publish later, confirm this assertion, although MANTEUFFEL did not obtain any therapeutic results by inoculating 5 cm^3 of the

serum of immune fowls, which is not to be wondered at.

The preparation of anti-epitheliomatous serum, as it is being carried out, consists in triturating material from epithelioma in a stone mortar, straining it through muslin and filtering it through paper, this being a technic similar to the one we employed in preparing serum against foot-and-mouth disease and other sera which are being worked upon. In the case that was being studied I avoided, in opposition to the one of foot-and-mouth disease, intravenous injections, although I consider them the best for superimmunisation, because in the case of fowls its difficulty renders it unpracticable; I preferred, therefore, intraperitoneal inoculations.

To avoid virus-carriers, I resolved to take only not very young fowls in big lots and to carry out a first test-inoculation on them. Although using birds that by their ages should have had chances of infecting themselves before, I was constantly obliged to set aside more or less 50%, because they would either acquire a marked diphtheria, or else because they would manifest the chronic coryza to which I have referred.

The birds, which in the course of a week show no symptoms of disease, save a slight green diarrhœa, are isolated for superimmunisation. This is done according to the general technic which we adopt in current practice for the preparation of serum against the filterable germs, with the alterations in dose and mode of inoculation required by the case, viz. ;

1rst Inoculation (Test Inoculation) Hypodermic injection of 0,1 gr. of the substance of the skin localisations *(boubas)* triturated and dissolved in physiological saline solution, filtered through muslin and through filter-paper.

2nd Inoculation; in the peritoneum, of 0,5 gr. of the substance of the skin localisations properly triturated, diluted and filtered.

3rd Inoculation; intra-peritoneal inoculation of 1 gr. of the material referred to.

4th Inoculation; intra-peritoneal inoculation of 2 grs. of the material referred to.

5th Inoculation; intra-peritoneal inoculation of 4 grs. of the material referred to.

Superimmunised fowls are killed on the tenth day after the fifth inoculation. The serum should be used the same day, as the preservation of it by means of Carbolic Acid (Phenol) produces in young chicks convulsions sometimes causing death and a great irritation at the site of inoculation. The Assistant-Chemist of the Station, BAETA VIANNA, purposes to obviate this drawback by substituting this chemical substance and besides by concentrating the serum through reduction of volume.

The chicks chosen should be very young in order to avoid the ones that should have become immunised by a previous attack of the disease.

Chicks of more than three months of age are already more resistant to infection and older ones and adults still more so; the latter recover without treatment.

After various tentative experiments I ascertained that a dose of 2,5 cm^3 already protects, when inoculated previously and, at times even when inoculated shortly after the virus.

The following tables are résumés of the more recent experiments:

1rst Series.

Chicks one month of age inoculated with 2,5 cm^3 of antiepitheliomatous serum.

1.—Inj. 5 minutes after virus (rubbed in on the head)..... Did not suffer
2.— « 10 « « « « « « « ..... † (death)
3.— « 15 « « « « « « « ..... †
4.— « 20 « « « « « « « ..... †
5.— « 25 « « « « « « « ..... †
6.—Inoculated only with the material from skin lesions (bouba)..... †

Only the chick injected 5' after the virus did not suffer, all the others died within 33 days. Chicks 4 and 5 had enormous skin localisations *(boubas)* the remainder smaller ones.

2nd Series.

Chicks one month of age inoculated with 3 cm³ of antiepitheliomatous serum and spleen extract.

7.—Inj. 15 minutes before virus (rubbed in on the head)..... Nothing
8.—Id..... Id
9.—Inj. 15 minutes after virus..... Id
10.—Id..... †
11.—Inj. 1 hour after virus..... †
12.—Id..... †
13.—Inj. of spleen extract one hour afterwards..... †
14.—Id..... †
15.—Inoculated only with virus..... †
16.—Id..... †

Chicks having been subjected to injection before the inoculation of virus (rubbed in on the head) did not get infected; even injection 1/4 hour after inoculation would only protect one of the two chicks inoculated; from this point on the protective activity was non-existant. Chicks 11 to 14 only showed diphtheric patches, the remainder skin localisations *(boubas)*.

3rd Series.

Chicks two months old inoculated with 4 cm³ of antiepitheliomatous or normal serum.

17.—Inj. 2 hours before (2 cm³) and 1 hour before (another 2 cm³)..... Did not suffer
18.—Id..... Id
19.—Id with normal chicken serum..... skin localisation (Bouba)
20.—Id. Id..... skin localisation (Bouba)
21.—Inoculated only with virus (rubbed in on the head).. skin localisation (Bouba)

In this experiment also the serum showed an absolute value as a preventive.

Fourth Series.

Chicks of a little more than two months of age inoculated with 2,4 and cm³. of antiepitheliomatous or normal serum.

Preventive Injections (Antiserum).

22.—Inj. of 2 cm³ 24 hours before virus (hypod. inj.)..... skin localisation (Bouba)
23.—Id..... Did not suffer
24.—Inj. of 2 cm³ 24 and 21 hours before virus..... (Total 4 cm³) Did not suffer

25. – Id. ..... Did not suffer
26. – Id. ..... Did not suffer
27. – Id. ..... Did not suffer
28. – Inj. of 2 cm³ at 24, 21 and 18 hours before virus..... (Total 6 cm³) Did not suffer
29. – Id ..... Did not suffer
30. – Id. ..... Did not suffer
31. – Id. ..... Did not suffer

Preventive Injections (Normal Serum).

32. – Inj. 2 cm³ of normal serum 24 hours before virus... skin localisation (Bouba) †
33. – Inj. 2 cm³, 24 and 21 hours before virus (Total 4 cm³) skin localisation (Bouba)
34. – Id ..... skin localisation (Bouba)
35. – Inj. of 2 cm³ 24, 21 and 18 hours before virus (Total 6 cm³) skin local. (Bouba)
36. – Id. ..... skin localisation (Bouba)

Curative Injections (Antiserum).

37. – Inj. 2 cm³ immediately after hypod. inj. of virus..... Nodules
38. – Id. ..... skin localisation (Bouba)
39. – Inj. 2 cm³ plus 2 cm³ after inj. of virus..... Nodules
40. – Id. ..... Nodules
41. – Id. ..... Nodules
42. – Id. ..... Nodules
43. – Inj. 2 cm³, plus 2, plus 2 after inj. virus..... Nodules
44. – Id. ..... Nodules
45. – Id. ..... Nodules
46. – Id. ..... Nodules

Preventive Injections (Normal Serum).

47. – Inj. of 2 cm³ immediately after the inj. of virus..... skin localisation (Bouba)
48. – Inj. of 2 cm³ plus 2 cm³ after the inj. of virus. (total 4 cm³) skin local. (Bouba) †
49. – Id ..... skin localisation (Bouba) †
50. – Inj. of 2 cm³, plus 2 cm³, plus 2 cm³ after virus..... skin localisation (Bouba) (killed)
51. – Id. ..... skin localisation (Bouba) †
52. – Id. ..... skin localisation (Bouba)

Controls.

52. – Inoculated only with virus..... skin localisation (Bouba) †
53. – Id ..... skin localisation (Bouba) †
54. – Id. ..... skin localisation (Bouba)
55. – Id. ..... skin localisation (Bouba)
56. – Id. ..... skin localisation (Bouba)

Chicks do not tolerate injections of more than 2 cm³ to 3 cm³, therefore in this series the injections of 4 to 6 cm³ were made in two or three times at intervals of approximately three hours.

The nodules observed in the abdomen (site of the injection of serum in chicks of numbers 38 to 46) appear to have been due to the carbolic acid needed to preserve the serum; this was not observed in the chicks of lower numbers, injected with fresh serum, nor in the controls treated with normal serum, also in fresh condition.

Here, once more, the preventive va-

lue of the serum was complete, when the serum was used in the dose of 4 to 6 cm^3.

We may therefore conclude that serum against the epithelioma of fowls may be easily obtained provided that;

1° the superimmunised fowls support the inoculations without morbid manifestations, even slight ones (chronic coryza, for instance).

2° the activity of the immunising serum be verified with high doses with regard to the weight of the animal that is to be protected against infection.

The simple passage of the virulent material through muslin and filter paper might, at first sight, seem to prejudice the experime but I had no intention of demonstrating in any way the filterability of the germ of the diphtheria of fowls; this had already been brilliantly done by great research-workers; my purpose was to show that fowls superimmunised with virulent material furnish serum against a disease produced by a filterable germ that seemed to elude the general principal that; *The filterable germs produce, as a rule, preventive serum when inoculated in a proper manner in animals sensitive to the disease which they provoke.*

Bello Horizonte, May 21rst, 1922.

Beitrag zur Kentnis der Gregarinen (1)

von

Dr. med. CESAR PINTO

(Taf. 1—6).

Einleitung.

Nachfolgende Arbeit ist das Ergebnis von Untersuchungen, die im Monat September 1917, unter Leitung der Assistenten Dr. OLYMPIO DA FONSECA jun. und Dr. ARISTIDES MARQUES DA CUNHA, im Instituto Oswaldo Cruz begonnen wurden. In zwoelf vorlauefigen Mitteilungen, welche im Jahre 1918 im «*Brazil Medico*» erschienen, beschrieb ich 16 neue Arten von Gregarinen und stellte zwei neue Gattungen auf, eine derselben fuer eine bereits bekannte Art, die andere fuer eine der neuen Gregarinenformen. Ausserdem gab ich die Wiederbeschreibung zweier bereits bekannter Gregarinen, bei welchen ich einige Charaktere beobachtete, die den früheren Beschreibern entgangen waren. Die Zahl der von mir untersuchten Arthropoden erreichte 471; sie wurden in Leme und Manguinhos, in der Umgegend von Rio de Janeiro, waehrend verschiedener Jahreszeiten gesammelt. In Myriapoden, welche von Dr. OLYMPIO da FONSECA waehrend einer wiessenschaftlichen Expedition am Rio Paraná, im Staate São Paulo, gesammelt und untersucht wurden, fand ich nur zwei, bereits bekannte Gregarinenarten, *Stenophora juli* und *St. cockerellae*.

Erst nach zehnmonatlichen Untersuchungen gelang es mir, von einer einzigen Gregarine den Entwicklungszyclus festzustellen, da die Sporen dieser Protozoen immer sehr selten waren, obgeich die Arthropoden in verschiedenen Jahreszeiten untersucht wurden. Das einzige Tier, welches eine grosse Zahl von Sporen aufwies, war ein Oligochaete *(Glossoscolex wiengreeni)*, der von Dr. OLYMPIO DA FONSECA in der Umgegend von Rio (Gavea), gefunden wurde. Ich benutzte die grosse Zahl von Sporen der *Monocystis perforans* PINTO, 1918, welche im Gewebe des Testikels, im Coelom und in den Faeces gefunden wurden, um die Bildung der Sporozoiten *in*

(1) Preisgekrönt von der Medizinischen Fakultät in Rio de Janeiro mit dem "Cunning-Preis" fuer Naturgeschichte.

vitro zu beobachten, was relativ leicht gelang.

Brasilianische Literatur.

Ich kenne nur eine brasilianische Arbeit ueber das vorliegende Thema; dieselbe wurde von Professor PEDRO SEVERIANO DE MAGALHÃES in den «Archives de Parasitologie» (Paris, 1900) veroeffentlicht. Neuerdings publizierte Dr. GUSTAVO HASSELMANN, Professor an der Landwirtschaftlichen Schule, im «Brazil-Medico» fuenf vorlauefige Mitteilungen ueber Sporozoen und beschrieb einige neue Gregarinenarten; ueberdies studierte er eingehend den Entwicklungszyklus dieser Protozoen.

Technik.

BESCHAFFUNG DES STUDIENMATERIALS: Von wirbellosen Tieren sind Arthropoden, Anneliden, Mollusken, Echinodermen etc. die haufigsten Wirte von Gregarinen. Von Gliedertieren ist eine Schabenart, *Stylopyga americana,* hier am leichtesten zu beschaffen und enthaelt die folgenden Arten: *Gregarina blattarum* (von Sieboldt), *Protomagalhaensia serpentula* (Magalhães, 1900) und *Gregarina légeri* Pinto, 1918.

Nachdem die Wirte durch Chloroform oder Aether getoetet wurden, nimmt man den Darm heraus und eroeffnet ihn in seiner ganzen Laenge mit einer geeigneten feinen Schere. Man kann dann haeufig mit blossem Auge kleine weissliche Staebchen unterscheiden; dieselben werden zusammen mit dem Darminhalt in eine Pipette aufgenommen und dann bei schwacher Vergroesserung untersucht (Obj. A Zeiss). Nachdem die Gegenwart der Gregarinen im Darme des Wirte festgestellt ist, wird derselbe fixiert, in Paraffin eingebettet und in Schnitte zerlegt, in whelchen man die intrazellulaeren Gregarinenformen sucht.

Mikroskopische Praeparate.

Man untersucht in frischen oder gefaerbten Praparaten; letztere wurden nach der Methode von HEIDENHAIN oder mit Haematoxylin (nach DELAFIELD oder HANSEN) hergestellt. Die Darmschnitte, welche intrazellulaere Formen aufwiesen, wurden ebenso nach HEIDENHAIN gefaerbt, was immer gute Resultate gab. Beim Studium der Systematik ist es besser, die Gregarinen lebend zu zeichnen, da sie sich bei der Fixierung und Faerbung in Folge ihrer ungewoehnlichen Dimensionen oft in Fragmente aufloesen.

Studium der Brasilianischen Gattungen und Arten.

Waehrend meiner Untersuchungen ueber brasilianische Sporozoen stellte ich das Vorkommen von sechs Gregarinengattungen fest. Zwei derselben wurden von mir aufgestellt. Beim Studium einiger Arten fiel es mir schwer, dieselben in bereits bekannte Gattungen unterzubringen; in Ermangelung einer genuegenden wissenschaftlichen Basis fuer die Aufstellung neuer Genera, habe ich einige Arten vorlauefig in der Gattung *Gregarina* Dufour untergebracht, bis die Stellung derselben durch weitere Studien genuegend aufgeklaert sein wird.

Polycystische Gregarinen (CEPHALINAE).

I. Fam. *STENOPHORIDAE* (LÉGER et DUBOSQ, 1904). PINTO, 1918.
a) Genus *STENOPHORA* LABBÉ, 1899.
b) Genus *FONSECAIA* PINTO, 1918.
II. Fam. *GREGARINIDAE* LABBÉ, 1899.
a) Genus *GREGARINA* DUFOUR, 1828.
b) Genus *PROTOMAGALHAENSIA* PINTO, 1918.
III. Fam. *ACTINOCEPHALIDAE* LÉGER, 1892.
a) Genus *BOTHRIOPSIS* SCHNEIDER, 1875.

Monocystische Gregarinen (ACEPHALINAE).

I. Fam. *MONOCYSTIDAE* BUETSCHLI, 1882.

a) Genus *MONOCYSTIS* STEIN, 1848.

Genus Fonsecaia PINTO, 1918.

Diagnose der Gattung: Polycystische Gregarinen mit intrazellulaerer Entwicklung, keine Syzygien bildend. Glatte Sporocysten von laenglich elliptischer Form, ohne Aequatoriallinie und Endosporocysten. Nicht zu Ketten vereinigt. Epimerit sehr reduziert, ohne Endoplasma. Parasitisch in Diplopoden. Cysten unbekannt.

Dieses Genus gehoert zur Familie *Stenophoridae* LÉGER und DUBOSQ, 1904, deren Diagnose ich modifizierte, um ihr Arten einzureihen, welche weder Aequatoriallinie, noch Endosporocysten aufweisen.

Typische Art des Genus: Fonsecaia polymorpha PINTO, 1918.

(Tafel. 1, Fig 1—17).

Dimensionen: Runde Form (Fig. 2 und 3): Gesammtlaenge 30 mikra; Laenge des Protomeriten 8, Breite 11 mikra; Laenge des Deutomeriten 24 mikra.

Intermediaere Form (Fig. 4 bis 9); Gesamtlaenge 100 mikra; Laenge des Protomeriten 10 mikra; Breite 14; Deutomerit 48 mikra breit.

Sporont (Fig. 17): Gesammtlaenge 170 mikra; Protomerit 15 mikra lang, 18 mikra breit; Deutomerit 80 mikra breit. Durchmesser des Kerns 10 mikra, des Karyosoms 3 mikra.

Dimensionen der Sporen (Fig. 1): 18 mikra Laenge bei 8 Breite. Verhaeltnis der Dimensionen des Sporonten (Fig. 17): Die Laenge des Protomeriten verhaelt sich zur Gesammtlaenge der Gregarine wie 1:11,3, die Breite des Protomeriten zu der des Deutomeriten wie 1 zu 4,4. Breite des Protomeriten zur Laenge desselben wie 1 zu 1,2.

Beschreibung: Fonsecaia polymorpha zeigt zwei verschiedene Typen, bei denen Zwischenformen vorkommen. Es sind dies ein runder (Fig. 2—3) Typhus, anscheinend ohne Epimerit und ein langer Typus (Fig. 4—17) mit fast konstantem, jedoch zuweilen rudimentaerem Epimeriten.

Runde Form (Fig. 2 — 3) mit einem Durchmesser von 30 mikra und einem halbkugelfoermigen, 8 mikra langen und 11 breiten Protomeriten. Deutomerit fast immer vollkommen kugelig, mit ziemlich entwickeltem Epizyt und einem Durchmesser von zirka 24 mikra. Das Septum ist flach.

Lange Form (Fig. 4—17): Epimerit manchmal rudimentaer oder zuweilen ganz fehlend, immer ohne Endoplasma. Protomerit in abgeflachter Zylinder- oder Birnform. Septum zuweilen nicht erkennbar. Deutomerit bei den langen Formen manchmal ziemlich vielgestaltig. Zuweilen ist er zylindrisch und kann in einer Spitze enden, die immer abgestumpft ist; in anderen Faellen zeigt sein mittlerer Teil eine Erweiterung, die sich nach beiden Enden verschmaelert, oder diese Erweiterung ist nach einem der beiden Enden verschoben, so das einer der verschmaelerten Teile laenger wird, als der andere, und der Parasit eine Flaschenform zeigt (Taf. 1, Fig. 12).

Abgesehen von solchen individuellen Variationen des Deutomeriten kann bei demselben Exemplare durch sine zirkulaere Kontraktion der Myonemen eine Einschnuerung auftreten, die sich nach der einen oder anderen Richtung verschieben kann (Taf. 1 Fig. 7). In den von mir beobachteten Sporonten war der Deutomerit eifoermig (Taf. 1, Fig. 17). Ich sah einen solchen Sporonten sich nach und nach einschnueren, bis er Birnform annahm (Taf. 1, Fig. 11) und an seiner Basis den sehr reduzierten Protomeriten zeigte.

Epizyt fast bei allen Exemplaren ziemlich dick. Myonemfibrillen unsichtbar, entweder nur im vorderen und mittleren Teile oder in der ganzen Ausdehnung des Deutomeriten. Endozyt von brauner

oder gelblicher Farbe und mit einer Koernung, die im Deutomeriten immer dicker ist. In einem Exemplar beobachtete ich deutlich das Freibleiben von dieser Koernung im mittleren Teile des Deutomeriten, woselbst eine Aequatorialzone auftrat, in der nur Myonemfibrillen sichtbar waren. (Taf. 1, Fig. 17). Die Granulationen des Deutomeriten koennen sich in seinem mittleren Teile anhaeufen, so dass nur in der Nache des Epizyten ein hyaliner Raum freibleibt (Taf. 1, Fig. 9).

Kern. Auch dieser Teil der Gregarine zeigt verschiedene Bilder. Bei manchen Exemplaren ist er in frischem Zustande unsichtbar; bei anderen erscheint er rund, mit oder ohne Karyosom von runder Form und wechselnder Groesse; er ist auch in frischem Zustande sichtbar. Manchmal ist er laenglich in Rosetten (Fig. 13) oder in Birnform (Fig. 14).

Bewegungen. Die runden Formen und die Sporonten zeigten keine Bewegung, dagegen sah ich bei mittelgrossen Exemplaren bald langsame, bald ungewoehnlich lebhafte Bewegungen. Die Gregarine bewegt sich immer in der Richtung ihrer Laengsachse und macht zuerst gewöhnlich einen kurzen Vorstoss, auf den sofort eine ruecklaeufige Bewegung folgt. Bei mittelgrossen Formen mit deutlichen Myonemen sah ich die Gregarine sich in der Mitte umbiegen und nach der einen oder anderen Seite verschieben. Die fast unbeweglichen Sporonten liessen niemals solche Bewegungen erkennen.

Zysten: Obgleich ich eine grosse Zahl von Diplopoden untersuchte, fand ich niemals Zysten.

Sporocysten sind bereits beschrieben.

Fundort des Wirtes: Militaerhospital, Jockey-Club, Rio.

Zeit: April 1918.

Wirt: Orthomorpha gracilis KOCH, 1847.

Vorkommen: Darm.

Stenophora cunhai PINTO, 1918.
(Taf. 6 Fig 87–88).

Dimensionen: Gesammtlaenge 250 des Protomeriten 50 mikra. Breite desselben 40, des Deutomeriten 30 mikra. Durchmesser des Kerns 20, des Karyosoms 10 mikra.

Verhaeltnis der verschiedenen Dimensionen: Laenge des Protomeriten zur Gesamtlaenge 1 zu 5; Breite des Protomeriten zu der des Deutomeriten 1:1; Breite des Protomeriten zur Laenge desselben 1:1,2.

Der Protomerit zeigt ein kugeliges Vorderende mit nachfolgender ringfoermiger Einschnuerung. Hinter dieser findet sich ein zweiter erweiterter Teil, gefolgt von einer zweiten Einschnuerung, die dem Septum zwischen Deuto- und Protomeriten entspricht. Am vordersten Teil des Protomeriten befindet sich eine Reihe von Zaehnchen.

Deutomerit zylindrisch, gekruemmt, am Vorderende mit einer Erweiterung, die derjenigen am Hinterende des Protomeriten entspricht. Epizyt von gleichmaessiger Dicke, die starkentwickelten Myonemfibrillen in Form einer Laengsstreifung deutlich erkennbar. *Endozyt* wasserklar, mit wenigen Koernchen am Vorder- und Hinterende.

Kern: Rund, mit einem grossen Karyosom in der Mitte und einer halbmondfoermigen Chromatinmasse an der Oberflaeche.

Wirt. Rhinocricus pugio Broelemann, 1902, (Gongolo).

Vorkommen: Darm.

Fundort des Wirtes: Leme, Rio de Janeiro.

Zeit: November 1917.

Stenophora lutzi PINTO, 1918.
(Taf. 2, 5 u. 6, Figs. 32–36; 82–85).

Freie Gregarinen, aus der Leibeshoehle des Wirtes zeigten eine Laenge von 15 bis 210 mikra. Gesammtlaenge des Sporonten 210, des Protomeriten 28 mi-

kra; Breite des Protomeriten im hinteren Abschnitt 28, des Deutomeriten 35 mikra; Laenge des Epimeriten 5, Breite desselben 8 mikra.

Verhaeltnis zwischen der Laenge des Protomeriten und der Gesammtlaenge der Gregarine 1:7,5; zwischen der Breite des Deutomeriten und des Protomeriten 1:1,2; Verhaeltnis zwischen der Breite und Laenge des Protomeriten 1:1.

Epimerit halbkugelig, bei den intermediaeren Formen konstant, bei den Sporonten meistens fehlend.

Protomerit zylindrisch, immer mit mittlerer Einschnuerung, manchmal vorne mit einem Rest des Epimeriten, der sich losgeloest hat.

Deutomerit zylindrisch, mit abgerundeter Spitze am Ende.

Epizyt biegsam, von gleichmaessiger Dicke.

Endozyt braun, am Proto-und Deutomeriten koernig und bei letzterem oefters am vorderen Ende dunkler.

Kern rund, gewoehnlich im hinteren Teile des Deutomeriten, mit rundem Karyosom in der Mitte.

Zysten und Sporen unbekannt.

Unterscheidung der Art: Die beschriebene Gregarine gleicht der *Stenophora dauphinia.* WATSON unterscheidet sich aber durch das Fehlen eines Porus und der Papillen am Vorderende des Protomeriten. Das Vorkommen eines Epimeriten, wie er bei *Stenophora lutzi* beobachtet wird, hat WATSON bei seiner Art nicht angegeben.

Wirt: *Rhinocricus* sp.

Vorkommen: Darm.

Fundort: Rio de Janeiro. (Leme).

Zeit: November, 1917.

Stenophora cruzi. PINTO, 1819.
(Taf. 6, Fig. 89).

Dimensionen: Gesammtlaenge 400 mikra; Laenge des Protomeriten 30 mikra; Breite des Protomeriten 40 mikra; Breite des Deutomeriten 80 mikra; Kern: 10 mikra im Durchmesser.

Verhaeltnis der Laenge des Protomeriten zur Gesamtlaenge 1:13; der Breite des Deutomeriten zu der des Protomeriten 1:2, Breite des Protomeriten zur Laenge desselben 1:1,3.

Protomerit in abgestutzter Kegelform. Deutomerit zylindrisch, im vorderen Teile, nach hinten zu, schmaeler, mit abgerundeter Spitze. Bei dieser Art ist der Deutomerit immer gebogen. Epizyt gleichmaessig dick, mit klar durchscheinenden Myonemen, in einigen Teilen auch mit Falten von wechselnder Länge, die wie Furchen aussehen. Endozyt wasserklar, aber voll von kleinen Koernern, an den Seiten und and Ende deutlich vakuolaer. Protomerit mit Koernern, aber ohne Myoneme. Kern klein und rund.

Habitat: Darm. von *Rhinocricus* sp.

Fundort: Rio de Janeiro (Leme).

Zeit: Dezember, 1917.

Stenophora viannai PINTO, 1918.
(Taf. 6, Fig. 90—92).

Dimensionen: Gesammtlaenge 900 bis 1000 mikra; des Protomeriten 60 mikra; Breite des Protomeriten 70 mikra; des Deutomeriten 150 mikra; Epimerit 10 zu 30 mikra; Kern 30 mikra.

Verhaeltnis der Laenge des Protomeriten zur Gesammtlaenge 1:16,6 der Breite des Deutomeriten zu der des Protomeriten 1:2,1; der Breite des Protomeriten zu seiner Laenge 1:1,1.

Epimerit: Am Vorderende des Protomeriten findet sich ein Epimerit in Form eines annaehernd zylindrischen Fortsatzes mit centralem Porus. Protomerit halbkugelig, mit ziemlich deutlichem Septum. Deutomerit zylindrisch, mit abgerundeter Spitze. Diese Gregarine ist ziemlich polymorph. Bei einigen Exemplaren spitzt sich der Deutomerit am oberen Drittel zu; beim Protomeriten ist das nicht der Fall: er behaelt fast immer diesselbe Form.

Kern: Dieser Teil des Protisten lenkt durch Form und Lage sofort die Aufmerksamkeit des Beobachters auf

sich. Er ist immer von laenglicher Form und liegt meistens quer am Deutomeriten oder in seiner Naehe. Epizyt von wechselnder Dicke. Am Rande des Septums ist er von ziemlicher Dicke und mehr noch am Rande des Porus des Epimeriten.

Endozyt: koernig, beim Deutomeriten von brauner Farbe, beim Protomeriten immer hell.

Wirt: Rhinocricus (sp).
Vorkommer: Darm.
Fundort: Rio de Janeiro (Leme).
Zeit: Februar 1918.

Stenophora polydesmi (LANKESTER, 1863) WATSON, 1916.
(Taf. 3, Fig. 49).

Synonymie:
Gregarina polydesmi virginiensis LEIDY, 1853.
Gregarina polydesmi LANKESTER, 1863.
Amphoroides polydesmi LABBÉ, 1899.
Gregarina polydesmi-virginiensis CRAWLEY, 1903.
Amphoroides polydesmi-virginiensis ELLIS, 19913.

WATSON gab 1916 eine neue Beschreibung von dieser Art, nach welcher die Sporonten 400 bis 900 mikra lang sind. Ich fand folgende Dimensionen: Gesammtlaenge 370 mikra; Breite des Deutomeriten 40 mikra; Breite des Protomeriten 30 mikra; Länge desselben 40 mikra; Kern 10 mikra in Durchmesser.

Da die Figuren von WATSON manche Einzelheiten in der Struktur dieser Art nicht deutlich zeigen, gebe ich eine Zeichnung nach der Natur.

Stenophora polydesmi (LANK.) WAT. zeigt den Epimeriten in Form einer Calotte ohne Koerner, den Protomeriten koernig, mit laengsgerichteten Myonemen; quergelagerte Myoneme habe ich nie gesehen. Das Septum ist hell und leicht konkav, die Einbuchtung nach vorn gerichtet. Der Deutomerit ist ziemlich lang und durchweg braun gekoernt; er zeigt laengsgerichtete Myoneme; am Epizyten sieht man deutlich quergerichtete Myoneme, doch lassen sich diese nur an der Peripherie erkennen.

Wirt: Rhinocricus (sp.)
Vorkommen: Darm.
Fundort: Rio de Janeiro. (Leme)
Zeit: November, 1917.

Stenophora umbilicata PINTO, 1918.
(Taf. 5, Fig. 79 und 80).

Dimensionen: Gesammtlaenge des Sporonten: 320. Laenge des Protomeriten 25 mikra, Breite des Protomeriten 40, des Deutomeriten 150 mikra; Kern 40, Karyosom 10 mikra im Durchmesser.

Epimerit: rudimentaer. Protomerit sehr klein und stark abgeplattet. Deutomerit im Verhältnis zum Protomeriten sehr breit, von elliptischem Umriss.

Die Kombination von Epimerit und Deutomerit, die beide stark abgeflacht sind, laesst das Vorderende dieser Art nabelfoermig erscheinen.

Epizyt: bei einigen Sporonten nicht abgegrenzt, bei anderen am Vorderende des Deutomeriten angedeutet.

Endozyt: am Protomeriten und Deutomeriten hell und koernig.

Kern: sehr gross, rundlich, im Zentrum mit einem grossen kugelfoermigen Karyosom.

Wirt: Rhinocricus (sp).
Vorkommen: Darm.
Fundort: Rio de Janeiro (Leme).
Zeit:: Dezember, 1917.

Stenophora tenuicollis PINTO, 1918.
(Taf 5 Fig. 81).

Dimensionen: Gesamtlaenge des Sporonten 400 mikra; Protomerit 20 mikra lang und 20 mikra breit; Deutomerit in der groessten Breite 50, in der geringsten 18 mikra.

Kern: 10 mikra im Durchmesser.

Protomerit kegelfoermig. *Deutomerit* gekruemmt, von wechselndem Durchmes-

ser in seiner ganzen Laenge, im Vorderteile ballonfoermig erweitert. Nach hinten folgt ein schmaler Teil, der sich nach und nach erweitert und am Ende Keulenform aunimmt. Der schmaelere Teil zwischen den beiden erweiterten Enden hat die Form eines langen und duennen Flaschenhalses.

Endozyt: im Proto- und Deutomeriten hell; sehr gut entwickelte Myoneme im Protomeriten und mittleren Teile des Deutomeriten.

Wirt: Rhinocricus (sp.).

Vorkommen: Darm.

Fundort: Rio de Janeiro (Manguinhos).

Zeit: Dezember, 1917.

Genus Protomagalhaensia PINTO, 1918.

Genus-Diagnose: Sporen in Form eines Toennchens mit vier Dornen. Entwicklung immer intra-zellulaer. Zysten unbekannt. Alle Entwicklungsformen laenglich. Syzygien: Der Protomerit des Satelliten umfasst den Deutomeriten des Primiten zangenartig. Epimerit unbekannt. Ich stelle dieses Genus in die Familie *Gregarinidae* LABBÉ, 1889.

Nachfolgende Zusammenstellung zeigt die Verschiedenheiten zwischen meiner Gattung und dem Genus *Gregarina* DUFOUR, 1828.

Genus *Gregarina* DUFOUR, 1828.
Sporen zylindrisch oder in Toennchenform.
Entwicklung intrazellulaer.
Zysten mit Sporoducten.
Entwicklungsformen laenglich und rundlich.
Epimerit rundlich oder zylindrisch.
Syzygien: der Protomerit des Satelliten nur adhaerent am Deutomeriten des Primiten.

Genus *Protomagalhaensia* PINTO, 1918.
Sporen in Toennchenform, mit einem Dorn in jedem Winkel.
Entwicklung intrazellulaer.
Zysten unbekannt.
Entwicklunggsformen immer laenglich.
Epimerit unbekannt.
Syzygien: der Protomerit des Satelliten umfasst den Deutomeriten des Primiten zangenartig.

Typische Art der Gattung: PROTOMAGALHAENSIA SERPENTULA (MAGALHÃES, 1900). PINTO, 1918.

(Taf. 3 u. 6, Fig. 48 u. 93).

Synonymie:
Gregarina serpentula MAGALHÃES, 1900.

Dimensionen nach MAGALHÃES: Exemplare von 1,2 mm. Laenge bei 0,18 mm. Breite. Gewoehnliche Laenge 0,77 bis 0,80 mm. bei 0,06 mm. Breite. Der Protomerit ist 50 mikra lang.

Pr. serpentula zeigte stets die Form eines ziemlich langen Zylinders und besass in fast allen beobachteten Exemplaren sehr deutliche Myonemen; diese sind am Protomeriten und an Deutomeriten sichtbar und verlaufen in der Laengsrichtung der Gregarine. Transversale Myoneme im Epizyten habe ich nie beobachtet.

Bei einigen Exemplaren beobachtete ich einen kleinen braunen eifoermigen Fleck im Protomeriten des Sporonten. Im mittleren Teil des Protomeriten dieses Protisten sieht man auch eine leichte Einschnuerung infolge der Bewegungen, welche der vordere Teil des Protomeriten nach der einen oder der anderen Seite ausfuehrt. Die Syzygien koennen Y- oder Gabelform zeigen. In diesem Falle sieht man die Satelliten in verschiedener Weise am Primiten befestigt. Der echte Satellit befestigt sich am Primiten, indem er dessen Endteil zangenartig umfasst. (Fig. 48). Der Pseudosatellit tut dies in anderer Weise, das, heisst,

er befestigt sich am Primiten, wie der Satellit der *Gregarina aragãoi* PINTO, 1918.

Wirt: *Stylopyga americana* (Kakerlake).

Vorkommen: Darm.

Fundort: Rio de Janeiro (Leme).

Gregarina magalhaensi PINTO, 1918.
(Taf. 1 u 2, Fig. 18—29).

Dimensionen: der jungen Formen: Gesamtlaenge 80 mikra. Laenge des Protomeriten 20, Breites desselben 20 mikra; Durchmesser des Kerns 10 mikra.

Dimensionen: des Sporonten: Gesammtlaenge 300, Laenge des Protomeriten 65, Breite desselben 60 mikra; des Deutomeriten 70 mikra.

Epimerit: (Fig. 18—24 & 24). Dieser Teil ist bei *Gregarina magalhaensia* ziemlich beweglich und zeigt verschiedene Formen; in der Ruhe ist er kegelfoermig und frei von Koernern.

Protomerit: mit bemerkenswertem Pleomorphismus, bei jungen Formen (Fig. 24) zylindro-konisch, in anderen Faellen von vorne nach hinten abgeplattet (Fig. 23); zuweilen beobachtete ich auch abgeflachte Protomeriten mit Aus- und Einbuchtungen, entweder im Vorderteil (Fig. 25) oder an den Seiten (Fig. 26); die Veraenderlichkeit der Form des Protomeriten ist eine Folge der von der Gregarine ausgefuehrten Bewegungen, bei welchen sich der Protomerit nach beiden Seiten verschiebt. Septum geradlinig oder leicht gekruemmt, manchmal nicht wahrnehmbar. Deutomerit zylindrisch; bei intermediaeren Formen (Fig. 29) zeigt der Deutomerit mehr oder weniger S-form; Wenn sich die Gregarine vorwaerts bewegt, biegt sich der Deutomerit nach und nach und nimmt zuletzt eine abgeflachte S-form an.

Epizyt: zuweilen nicht wahrnehmbar (Fig. 26 und 28); in anderen Faellen dick mit vielen Falten von wechselnder Groesse am Deutomeriten (Fig. 29). Manchmal dringt der Epizyt in zwei Drittel des Deutomeriten ein, wodurch der Eindruck von Furchen entsteht. (Fig. 29).

Endozyt: hell, mit Granulationen im Protomeriten.

Deutomerit: ziemlich dunkel, ebenfalls mit vielen Granulationen.

Kern: von wechselnder Form und Groesse.

Zysten: eifoermig.

Wirt: *Scolopendra* sp.

Vorkommen: Darm.

Fundort: Rio de Janeiro.

Zeit: November, 1917.

Meinen Kollegen Dr. ALVIM TEIXEIRA DE AGUIAR und Dr. ARTHUR PAULO DE SOUZA MARTINS, von denen ich das Material fuer das Studium dieser Art erhielt, spreche ich hier meinen besten Dank aus.

Gregarina brasiliensis PINTO, 1918.
(Taf. 2 Fig. 30—31).

Dimensionen: Gesamtlaenge 92 mikra; Laenge des Protomeriten 38 mikra; Breite desselben 30, Laenge des Deutomeriten 35 mikra; Laenge des Kerns 20, Breite desselben 10 mikra. Durchmesser des Karyosoms 4 mikra.

Verhaeltinis der Dimensionen: Laenge des Protomeriten zur Gesamtlaenge: 1:2,4; Breite des Deutomeriten zu der des Protomeriten 1:1,1; Breite des Protomeriten zur Laenge desselben 1:1,2.

Protomerit: zylindrisch-eifoermig, gekruemmt, meistens dem vorderen Ende des Deutomeriten schraeg aufsitzend (Fig. 31); Deutomerit birnfoermig.

Epizyt: des Protomeriten und Deutomeriten ziemlich dick; Endozyt beider koernig; Zysten und Sporen nicht beobachtet. Kern oval, mit vielgestaltigem Karyosom und Chromatinkoernern von wechselnder Groesse, in unregelmaessiger Anordnung.

Beweglichkeit: Bei der Beobachtung dieser Art bemerkt man sofort ziemlich ausgesprochene Bewegungen; die Verschiebung findet nur nach vorne statt.

Differentialdiagnose: Diese Art gleicht der *Gregarina grisea* ELLIS, und dem *Actinocephalus stelliformis* AIMÉ SCHNEIDER. Von ersterer unterscheidet sie sich durch deutliche Einschnuerung des Septums und Abwesenheit von Syzygien; ausserdem durch die Form des Vorderendes des Protomeriten. Von letzterem unterscheidet sie sich dadurch, dass sie einen Epimeriten besitzt, der sich lange Zeit erhält und durch die Form des Septums, welches bei *Actinocephalus stelliformis* immer flach ist. *Gregarina brasiliensis* zeigt nur eine Form des Deutomeriten, im Gegensatz zum *Actinocephalus stelliformis* A. SCHNEIDER, dessen Deutomerit drei Varietaeten anfweist, eine birnfoermige, eine laengliche und eine subsphaerische.

Wirt: Scolopendra sp.

Vorkommen: Darm.

Fundort: Rio de Janeiro.

Zeit: Oktober 1917. Dr. SEVERINO LESSA spreche ich meinen Dank aus fuer die Beschaffung des Materials zum Studium dieser Art.

Gregarina elegans PINTO, 1918.

(Taf. 2 Fig. 37).

Dimensionen: Gesamtlaenge 75 mikra; Laenge des Protomeriten 10, Breite desselben 24 mikra; Breite des Deutomeriten 32; Laenge des Kerns 12, Breite desselben 5 mikra; Durchmesser des Karyosoms 2 mikra.

Verhaeltnis der Dimensionen: Laenge des Protomeriten zur Gesamtlaenge 1:7,5; Breite des Deutomeriten zu der des Protomeriten 1:1,2; Breite des Protomeriten zu seiner Laenge 1:2,4.

Protomerit: kurz, von vorn nach hinten abgeflacht, in der Mitte mit einer eifoermigen Bildung, deren groesster Durchmesser quer verlaeuft; dieselbe kann nicht als Kern angesprochen werden, weil ihr die charakteristische Struktur fehlt. Am Vorderende des Protomeriten befindet sich eine Reihe von Fasern.

Deutomerit: birnfoermig. Epizyt am Protomeriten duenn, am Deutomeriten ziemlich dick. Endozyt bei beiden koernig, im Protomeriten braun, im Deutomeriten noch dunkler. Kern: Derselbe wurde in Praeparaten, welche mit Sublimat-Alkohol nach SCHAUDINN fixirt und mit Eisenhaematoxilin nach HEIDENHAIN gefaerbt waren, genauer auf seine Struktur untersucht. Der birnfoermige Kern zeigt eine ziemlich ausgesprochene Membran von wechselnder Dicke, mit einem etwas ovalen Karyosom, innerhalb und etwas nach vorne gelegen. Ein Zentriol wurde weder innerhalb noch ausserhalb des Kernes gesehen. Linin im Innern desselben unregelmaessig angeordnet.

Bewegungen: Diese Art besitzt Beweglichkeit. Sie bewegt sich immer nach vorn, ohne ruecklaeufige Bewegungen, wie sie bei *Gregarina aragãoi* vorkommen.

Zysten: und Syzygien konnte ich nicht beobachten.

Wirt: Scolopendra sp.

Vorkommen: Darm.

Fundort: Rio de Janeiro.

Zeit: September, 1917.

Gregarina watsoni PINTO, 1918.

(Taf. 2 u. 3, Fig 39–43).

Dimensionen der beobachteten Exemplare: Entwicklungsformen von 54 mikra bis zu 350 mikra langen Sporonten. Masse eines Exemplares mit erhaltenem Epimeriten (Fig. 41): Gesammtlaenge 130, Laenge des Epimeriten 12, Breite desselben 20 mikra; Laenge des Protomeriten 25, Breite desselben 38, des Deutomerites 40 mikra. Kern 10, Karyoson 4 mikra im Durchmesser. Dimensionen des Sporonten: Gesamtlaenge 350; Laenge des Protomeriten 52, Breite desselben 104, Breite des Deutomeriten 152 mikra. Kern 30, Karyosom 10 mikra im Durchmesser.

Dimensionen der Syzygien: Gesamtlaenge 570 mikra, Primit 300, Satellit 270 mikra lang.

Epimerit kugelfoermig, ohne wahrnehmbare Bewegungen.

Protomerit von etwas wechselnder Struktur, je nachdem eine noch junge Gregarine oder eine noch in Entwickelung begriffene oder bereits ein Sporont vorliegt. Bei den jungen Formen erscheint dieser Abschnitt mehr oder weniger zylindro-konisch, mit einer seichten Einschnuerung im mittleren Teile. In den Zwischenformen, mit erhaltenen Epimeriten, zeigt der Protomerit pyramidenartige Form mit einer konstanten Einschnuerung im mittleren Stück. Dagegen fehlt dieses Merkmal beim Protomeriten der Sporonten, der nur eine halbkugelfoermige Plasmaportion aufweist. Die Sporonten besitzen einen viel kleineren Proto- und keinen Epimeriten. Das Septum ist bei jungen und intermediaeren Formen flach und fehlt bei den Sporonten.

Deutomerit: bei jungen Formen birnfoermig, bei den intermediaeren zylindrisch mit abgerundeter Spitze; bei den Sporonten ganz zylindrisch.

Bewegungen: Die Gregarine bewegt sich ziemlich rasch in gerader Linie, beibt jedoch fuer einige Sekunden stationaer; dann biegt sich der hintere Teil des Deutomeriten gegen den vorderen und macht Kruemmungen nach rechts und links, so dass in dieser Falle eine V-Form entsteht (Fig. 43).

Epizyt: Bei jungen und intermediaeren Formen fehlend, bei den Sporonten ziemlich deutlich. Endozyt koernig und braun gefaerbt, sowohl im Proto-, als auch im Deutomeriten, im Vorderteile des Epimeriten und im Protomeriten der Sporonten heller. Kern rund mit grossem Karyosom. Syzygien wurden in einigen Exemplaren beobachtet.

Dr. ADOLPHO LUTZ und Dr. MAGARINOS TORRES sage ich meinen besten Dank fuer die Bestimmung des Wirtes und fuer die Beschaffung des Studienmaterials.

Wirt: Omoplata normalis GERM. (Coleoptera).

Vorkommen: Darm.

Fundort: Nictheroy.
Zeit: April 1918.

Gregarina chagasi PINTO, 1918.
(Taf. 2 u. 4 Fig. 37 u. 56—60).

Dimensionen der Art: Totallaenge 130, Laenge des Protomeriten 35, Breite desselben 50, des Deutomeriten 50 mikra. Durchmesser des Kerns: 10 mikra.

Gegenseitige Beziehungen dieser Masse: Laenge des Protomeriten zur Gesammtlaenge 1:3,6, der Breite des Protomeriten zu der des Deutomeriten 1:1,5, der Breite des Protomeriten zur Laenge desselben: 1:1,5.

Protomerit: sub-globulaer, von hinten nach vorne abgeflacht und zwar schon bei den jungen Formen. Deutomerit zylindrisch, bei den jungen Formen im hinteren Teile schmaeler. In dem Masse, wie die Gregarinen sich zum Sporonten entwickeln, aendert sich die Form des Deutomeriten, der zuletzt in seiner ganzen Laenge gleich breit erscheint. Bei den Zwischenformen zeigt er eine nahezu sub-globulaere Zilinderform, spater als Sporont wird er laenglich mit hinterer Abflachung.

Epizyt: ziemlich biegsam, von gleichmaessiger Dicke; bei den jungen Formen dieser Art bemerkte ich deutliche Myonemen im hinteren Teile des Deutomeriten (Fig. 57). Endozyt gelblich, mit zerstreuten Koernchen im Proto- und Deutomeriten. Bei einigen Exemplaren bemerkte ich eine helle Querbinde im vorderem Teile des Deutomeriten (Fig. 58).

Kern: rund, mit manchmal sehr deutlicher Membran und zuweilen mit rundem, etwas excentrischem Karyosom. Ich beobachtete eifoermige Zysten von sehr geringer Groesse (Fig. 59 und 60). Sporen bemerkte ich nicht. *Bewegungen:* Deutomerit im vorderen Drittel biegsam, sodass sich ein kleiner Teil desselben mit dem Protomeriten nach rechts und links biegen kann. Nachdem die Gre-

garine diese Bewegungen ausgefuehrt hat, verschiebt sie sich in gerader Linie etwas nach vorn und steht einige Sekunden still; manche Exemplare bewegen sich vorwaerts und rueckwaerts.

Wirt: Conocephalus frater REDT. (Heuschrecke).

Vorkommen: Darm.

Fundort: Manguinhos, Rio.

Zeit: Dezember 1917.

Die Bestimmung des Wirtes verdanke ich Dr. A. DA COSTA LIMA, von der Landwirtschaftlichen Schule.

Gregarina aragãoi PINTO, 1918.

(Taf. 2, 3, 4 u. 5 Fig. 44—47, 50—55, 61—62, 72—78)

Dimensionen: Gesamtlaenge 170 Breite des Deutomeriten 70 mikra; Laenge des Protomeriten 30, mikra; Breite desselben 40 mikra. Epimerit 10 mikra lang und 10 breit. Syzygien: Laenge des Primiten 160 mikra; zu 160 Breite; Satellit 150 mikra lang, 140 breit. Kern 12, Karyosom 8 mikra im Durchmesser.

Epimerit: zylindrisch mit abgerundetem Ende wenig beweglich, zuweilen sich nach rechts oder links verschiebend. Protomerit, je nach dem Entwicklungszustand von wechselnder Form; bei jungen Exemplaren fast halbkugelig oder sonst zylindrisch mit abgerundetem Vorderende.

Deutomerit: von mehr oder weniger laenglicher Eiform. Epizyt ziemlich biegsam, von gleichmaessiger Dicke. Endozyt in einigen Exemplaren hyalinisch so dass die Gregarinen oft kaum zu erkennen sind. In anderen Faellen sind sie gut sichtbar, indem der Endozyt hellbraun erscheint. In nach HEIDENHAIN mit Eisenhaematoxylin gefaerbten Praeparaten zeigt der Endozyt wabige Struktur.

Kern: (Fig. 78.) rund mit gut erkennbarer Membran, meistens in der Mitte gelegen; doch sah ich ihn auch exzentrisch im vorderen Teile des Deutomeriten. In Darmschnitten, nach Fixierung mit Sublimatalkohol nach SCHAUDINN und Faerbung mit Haematoxylin nach HANSEN, konnte ich die Kernstruktur besser erkennen. Er zeigt immer ein grosses Karyosom. In der Kernsaftzone bemerkte ich haeufig ein Chromatinkorn, meist sehr nahe am Karyosom und mit diesem durch eine chromatinhaltige duenne Faser oder einen Schreier verbunden. Aehnliche Koerner beobachtete ASTROGILDO MACHADO in seiner *Schizocystis spinigeri* MACHADO.

HARTMANN, PROWAZEK und MACHADO halten diese Chromatinkoerner fuer aus dem Karyosom ausgetretene Zentriolen. Der Kern besitzt beinahe immer grosse Chromatinkoerner. Das Karyosom ist fast immer rund.

Syzygien: (Fig. 61 & 62) wurden einige Male beobachtet. Fig. 61 zeigt eine Form kurz vor der Enzystierung. Es gelang nicht, die Sporen zu beobachten.

Bewegungen und Formveraenderungen: Einige Exemplare zeigen rasche Vorwaerts-, andere seitliche Bewegungen. In letzterem Falle biegt sich die Gregarine auf sich selbst zurueck und der Endozyt verdichtet sich derartig, dass eine von der normalen ganz verschiedene Form entsteht. (Fig. 51) Ich sah Exemplare dieser Gregarine eine rundliche Form annehmen und sich nach Art der Ziliaten bewegen (Fig. 50); nach einigen Sekunden nahmen sie wieder eine laengliche Form an, und fuhren fort sich vor- und seitwaerts zu bewegen.

Entwicklungszyklus: Obgleich ich zahlreiche Coleopteren, die diese Gregarine beherbergten, untersuchte, konnte ich nur einen Teil des Entwichlungszyklus beobahten. Es gelang nicht Sporen oder Zysten in verschiedenen Reifestadien zu finden, was mich hinderte, Gameten und ihre Konjugation, Kopula, Zygoten, Sporen und Sporozoiten zu beobachten. Trotzdem der Darm des Wirtes aeusserst duenn war, wurde er doch im Sublimatalkohol nach SCHAUDINN fixiert, in Paraffin eingebettet und in seiner ganzen Laenge in Serienschnitte zerlegt, die

mit HEIDENHAINschem Eisenhaematoxylin gefaerbt wurden.

Der laengliche Sporozoit biegt die Cilien der Epithelzellen zur Seite und dringt in dieselben ein (Fig. 73); im Innern angelangt, verdraengt er den Kern und nimmt eine ovale Form an. (Fig. 72). In weiter vorgeschrittenen Phasen zeigt der Parasit zwei Segmente (Fig. 75) oder sogar 3 (Fig. 74) mit einen im Deutomeriten gelegenen Kerne. Nachdem die Gregarine sich auf Kosten der invadierten Epithelzelle entwickelt hat, ververlaesst sie dieselbe (Fig. 75) und bleibt noch einige Zeit mit dem Epimeriten in Verbindung (Fig. 76); manchmal laesst sie beim Austritt aus der Zelle den Epimeriten an derselben haengen. Im anderen Fällen wird derselbe nach der Abloesung lange Zeit beibehalten.

Wirt: Systena sp. (kleiner Kaefer).

Vorkommen: Darm.

Fundort: Manguinhos.

Gregarina legeri PINTO, 1918.
(Taf. 6 Fig. 86).

Dimensionen: Gesammtlaenge 290 mikra; Laenge des Protomeriten 60, Breite im vorderen Teile 70, im hinteren 50, Breite des Deutomeriten 60, im verbreiterten Teile 80 mikra. Kern 50 zu 30 mikra.

Verhaeltnis der Dimensionen: Laenge des Protomeriten zur Gesammtlaenge 1:4,8; Breite des Protomeriten zu der des Deutomeriten 1:1; Breite des Protomeriten zur Laenge desselben 1:1.

Protomerit: kurz, zylindrisch, am Vorderende kuglig erweitert; hier zeigt die Gregarine Spuren des Epimeriten, der sich losgeloest hat. Deutomerit zylindrisch, endet am hinteren Teile kuglig erweitert, woran man diese Art leicht von allen anderen unterscheidet.

Epizyt: doppelt konturiet, ohne deutliche Streifung. Endozyt koernig, braun, sowohl im Protomeriten als auch im Deutomeriten. Kern eifoermig, im erweiterten Endteile des Deutomeriten gelegen. Zysten und Sporen kamen nicht zur Beobachtung. Diese Art wurde nur einmal in *Stylopyga americana* gefunden.

Wirt: Stylopyga americana (Gemeine Kakerlaken).

Vorkommen: Darm.

Fundort: Rio de Janeiro. (Leme

Zeit: Dezember 1917.

Das Material zum Studium dieser Gregarina verdanke ich D. ABELARDO MELLO.

Bothriopsis claviformis PINTO, 1918.
(Taf. 4 Fig. 63—67).

Dimensionen: Es wurden Exemplare von 100 bis 200 mikra Laenge beobachtet. Breite des Deutomeriten 50 mikra, Laenge des Protomeriten 35 mikra zu 70 Breite. Epizyt gut entwickelt.

Protomerit: von vorne nach hinten abgeflacht, immer viel breiter als der Deutomerit, mit ihm zusammen eine Keulenform darstellend. Bei den meisten Exemplaren sah ich im Vorderteile des Protomeriten eine helle koernchenfreie Zone.

Deutomerit: vorne verbreitert, am Hinterende immer abgerundet. Hier finden sich bei den meisten Individuen Flecken von wechselnden Form, die zwar koernig, aber immer heller als der Rest des Endozyten des Deutomeriten erscheinen. Im Protomeriten sah ich solche Flecken niemals.

Das Septum ist immer konkav und dringt keilfoermig in den Protomeriten ein. Der Kern zeigt runde, ovale oder Hantelform. Zysten unbekannt.

Wirt: Larve einer Aeschnide (Odonata).

Vorkommen: Darm.

Fundort: Manguinhos.

Zeit: Juli, 1918.

Das Material zum Studium dieser Art verdanke ich Dr ADOLPHO LUTZ.

Monocystis perforans PINTO, 1918.
(Taf. 4—6 Fig. 68—71 & 94—100)

Beobachtung der Sporozoitenbildung

«in vitro»: Da diese Monocystide sehr zahlreiche Sporen aufwies, versuchte ich die Sporozoitenbildung zu beobachten, was verhaeltnismaessig leicht gelang. Zu diesem Zwecke nahm ich Zysten mit Sporen in verschiedenen Reifegraden und mischte sie mit physiologischer Kochsalzloesung von 8,5% und brachte die feuchte Mischung in eine Temperatur von 21°. Nach halbstuendiger Beobachtung, entstand allmaehlich der erste Sporozoit; nach einer Stunde hatten sich sechs Sporozoiten gebildet, von denen jeder annaehernd dieselbe Zeit gebrauchte. Am frischen Material konnte ich an nach HEIDENHAIN oder mit Haemalaun-Eosin gefaerbten Preparaten erkennen dass die Sporen acht Sporozoiten enthielten.

Spore: *Monocystis perforans* besitzt Sporen von doppelter Kegelform mit resistenter Membran und gleichen Polen, die regelmaessig gebildet und glatt sind (Angiosporen). Endospore eifoermig mit acht halbmondfoermigen Sporozoiten (Fig. 100), deren Kern zentral gelegen ist. Die Sporozoiten messen 5:1, die Sporen 21:7,5. mikra. Endosporen 14 mikra lang, 6,5 breit. Im Zentrum der Spore beobachtete ich bei frischen und gefaerbten Praeparaten ein kleines rundes Gebilde in der Mitte von 7 andern. Die so entstandene Rosette repraesentiert den Restkern der Spore.

Der Koerper der *Monocysts perforans* zeigt wechselnde Formen, unter welchen zylindrische vorherrscht. Man sieht isolierte Gregarinen und Syzygien. Die Soronten sind mit blossem Auge sichtbar und messen 1200 zu 800 mikra (Primit); der Satellit ist kleiner, 800 bis 750 mikra; die gemessenen Sporontenkerne waren 150 mikra lang und 50 breit; das rundliche Karyosom liegt regellos im Innern des Kerns; das Protoplasma der Gregarine ist in seiner ganzen Ausdehnung grob vakuolisiert.

Ich verdanke Herrn Professor CARLOS MOREIRA vom *Museu Nacional* die Bsstimmung des Oligochaeten in der die *Monocystis perforans* yorkommt.

Wirt: Glossoscolex wiengreeni Mchlsn.

Vorkommen: Hoden.

Fundort: Rio de Janeiro (Gavea).

Zeit: Juli 1918.

Erklaerung der Figuren.
(Taf. 1—6)

Fig. 1 *Fonsecaia polymorpha* PINTO, 1918. Spore.

Fig. 2 *Fonsecaia polymorpha* dito, runde Form.

Fig. 3 *Fonsecaia polymorpha* von oben nach unten gesehen.

Fig. 4—10 *Fonsecaia polymorpha*, Entwickelungsform. In Fig. 7 sind die Myonemen nur in der vorderen Haelfte des Deutomeriten sichtbar.

Fig. 11 *Fonsecaia polymorpha*. Dasselbe Exemplar wie in Fig. 17 (Sporont), zusammengezogen das die Form, wie in Fig. 11. angenommen hat.

Fig. 12 *Fonsecaia polymorpha* in Krugform; Myonemen im vorderen Teile des Deutomeriten sichtbar.

Figrn. 13—16 *Fonsecaia polymorpha* im Uebergang zum Sporonten.

Fig. 17 *Fonsecaia polymorpha* Sporonten. Der Protomerit klein im Verhaeltnis zum Deutomeriten; Epimerit ohne Koernung. Im mittleren Teile des Sporonten eine helle Zone in Folge des Ausfallens der Koernung des Endozyten; sehr deutliche Myonemen im mittleren Teile des Sporonten; Kern in Rosettenform, ein Karyosom enthaltend.

Figrn. 18—24 *Gregarina magalhaensi* PINTO, 1918: Junge Formen. Epimerit in allen Exemplaren sichtbar, nur in dem der Fig. 23 fehlend; In Fig. 20 bis 22 ist der Epimerit amoeboid und wechselt seine Form, den, vom Protomeriten ausgefuehrten Bewegungen entsprechend.

Figrn. 25—28 *Gregarina magalhaensi* dito, Entwickelung zu Sporonten.

Fig. 29 *Gregarina magalhaensi* dito, Sporont. Kern unsichtbar. Epizyt bildet Falten, die bis zum dritten Teile des Endozyten eindringen.

Figrn. 30—31 *Gregarina brasiliensis* PINTO, 1918. Eisenhaematoxylinfaerbung nach Heidenhain. Fig. 30 zeigt eine Gregarine in der Ruhe und Fig. 31 eine solche in Bewegung; Kern in Fig. 31 eifoermig, in Fig. 30 elliptisch. Im Kern sieht man stark gefaerbte Chromatinmassen von wechselnder Form und Groesse.

Fig. 37 *Gregarina elegans* PINTO, 1918. Eisenhaematoxylinfaerbung. Linin in Koernchenform.

Figrn. 32—36 *Stenophora lutzi* PINTO 1918. Der Epimerit fehlt nur bei dem Exemplar in Fig. 32. Alle Gregarinen enthalten Kerne, derjenige in Fig. 36 zeigt ein rundes Karyosom.

Figrn. 38, 56—60 *Gregarina chagasi* PINTO, 1918. Junge Formen in Fig. 57 und 58. Entwicklungsform ohne erkennbares Septum in Fig. 38. Sporont in Fig. 56. Cysten in Fig. 59 und 60, Fig. 57 zeigt Myonemen im Endteile des Deutomeriten. Fig. 58 eine helle Binde im vorderen Teile desselben.

Figrn. 39—43 *Gregarina watsoni* PINTO, 1918. Fig. 39 junge Form, mit dunklem Fleck im vorderen Teile des Protomeriten Fig. 40 eine bewegliche Form, bei welcher Epimerit und Protomerit ueber den Deutomeriten zurueckgebogen sing. Fig. 42 Syzygie der Gregarine. Fig. 41 zeigt den Epimeriten, den Protomeriten und den Deutomeriten. Fig. 43 Sporont, dessen Deutomerit seitlich umgebogen ist.

Fig. 49 *Stenophora polydesmi* (LANK, 1863). WATSON, 1916.

Fig. 44—47, 50—55, 61 und 62 *Gregarina aragãoi* PINTO, 1918. Fig. 55 zeigt in starker Vergroessung ein sehr kleines Exemplar mit allen drei Abschnitten. Fig. 45 und 46 Entwicklungsformen mit Epimerit. Fig. Ein Individuum von oben gesehen, in dieser Stellung dreht sich die Gregarina nach rechts und links wie ein Infusorium; Fig. 51 zeigt eine solche Form in schraeger Lage, im Begriff die Lage des Exemplares in Fig. 50 anzunehmen. Fig. 52 und 53. Entwicklung zum Sporonten; Fig. 54 Sporont (typische Gregarinenform); Fig. 62 Syzygie und Fig. 61 eine zweite vor der Zystenbildung, deren Satellit eine Abflachung des Protomeriten aufweist.

Figrn. 63—66 *Bothriopsis claviformis* PINTO, 1918.

Fig. 67 *Bothriopsis claviformis* Dito, Zysten.

Figrn. 68—71 *Monocystis perforans* PINTO, 1918. Fig. 68 Zysten mit Gameten; Fig. 69 Zyste mit Sporen; Fig. 70 Gregarine, 71 Syzygie.

Figrn. 72—76 *Gregarina aragãoi* PINTO, 1918. Endozellulaere Formen. Fig. 73 Sporozoit in eine Epithelzelle eindringend. Fig. 72 Spozoit in der Entwicklung zur Gregarine. Fig. 74 neugebildete Gregarine in einer Epithelialzelle Fig. 75 aus einer solchen austretend. Fig. 76. Eine Gregarine, mittelst des Epimeriten in einer Epithelialzelle fixiert. Fig. 77 eine Cyste; Fig. 78 Kern einer Gregarine (gezeichnet mit Okular 3 und Objektiv Imm. 1/12). Dicht am Kern ein von heller Zone umgebenes Zentriol.

Figrn. 79 und 80 *Stenophora umbilicata* PINTO, 1918.

Fig. 81 *Stenophora tenuicollis* PINTO, 1918.

Figrn. 82—85 *Stenophora lutzi* PINTO, 1918. Fig. 84 sehr junges Exemplar.

Fig. 86 *Gregarina légeri* PINTO, 1918.

Figrn. 87—88 *Stenophora cunhai* PINTO, 1918. Junge Form und Sporont.

Fig. 89 *Stenophora cruzi* PINTO, 1918. Sporont.

Figrn. 90—92 *Stenophora viannai* PINTO, 1918. Fig. 92 zeigt den Protomeriten und den Deutomeriten mit einer Papille.

Fig. 93 *Protomagalhaensia serpentula* (MAGALHÃES, 100), Kern (gezeichnet mit Kompensationsok. 6 und Objektiv 1,8). Eine Syzygie zeigt die Fig. 48.

Figrn. 94—100 *Monocystis perforans* PINTO, 1918. Sporen (gezeichnet mit Ok. 4 und Immersionsobj. 1/12). Im Zentrum der Spore sieht man eine Rosettenform, die dem Restkern entspricht. Von Fig. 97 an sieht man die Sporozoiten in der Spore.

On the relation of precipitins to precipitinogen

by

DR. J. COSTA CRUZ

The concomitant existence of precipitins and precipitinogen circulating in the blood of animals, vaccinated with sera of distant species, is a fact which was mentioned a long time ago and which immediately attracted the attention of numerous authors, on account of it's apparently contractory signification.

LINOSSIER and LEMOINE seem to have been the firsts to verify this phenomenon. EISENBERG studied it in detail and tried to explain it as a state of chemical equilibrium following the laws of mass action.

VON DUNGERN, in 1904, demonstrated by numerous experiments that the reaction lay outside the dominion of that law. A careful analysis of the phenomenon led him to believe that in the antigenic sera there existed not one but many precipitinogens which called into existence, in the immunised animals, not one but various precipitins, endowed each one, with affinity for it's corresponding antigen alone, so that the simultaneous presence in the blood stream of antigen and antibody, without precipitation could be readily understood.

On the other hand the numerous authors who occupied thenselves with demonstrating the specificity of precipitins for certain proteins disagree considerably in the results obtained.

LEBLANC, for instance, obtained, by immunising rabbits with beef-serum albumin (protein) and bullock serum pseudo-globulin, precipitins which would only precipitate with the antigens employed in immunisation. OBERMAYER and PICK, ROSTOSKI, UMBER, LANDSTEINER and CALVO believe, on the contrary, that no such specificity is ascertainable. In their experiments, OBERMAYER and PICK employed as antigen different substances extracted from white of egg: four chemically distinct globulins, one crystallising and one uncrystallising albumin. LANDSTEINER and CALVO immunised animals with different fractions of horse-serum obtained

by the usual precipitation processes. UMBER used albuminoids of the white of egg, a crystallised albumin and a crystallised globulin. ASCOLI, however, was able to demonstrate by means of elective absorption that the various immune sera, obtained by treating rabbits with different fractions of horse-serum, were not identical with one another. The precipitability of the serum entirely disappears after treatment by a sufficient amount of the corresponding antigen, whilst by treatment with a different fraction of horse-serum a partial reaction is obtained, enabling yet a subsequent precipitation with the fraction used in immunising the animal. Many other authors (BERTARELLI, SACCONAGHI, FRANCESCHELLI) have occupied themselves with this aspect of the problem, but their results do not lead us to a more secure conclusion than those of the first mentioned authors.

UHLENHUTH is of the oponion that the chemical processes for the preparation and purification of these antigens are not sufficiently perfect to allow us to take a stand in favour of one opinion, or the other, seeing that the precipitin-reaction is far more sensitive than the ones that can be made with chemical reactives.

This is also the point of view of the majority of authors who have contributed to these studies. Recently there have appeared authors who propose to explain the simultaneous coexistence of precipitin and precipitinogen on the basis of the analogy between this phenomenon and certain states of colloidal equilibrum, maintained by protective colloids (ZINSSER, YOUNG). Amongst many other arguments, one that appears to find the most favour with the authors, is the slow spontaneous precipitation, «autoprecipitation», which takes place in the precipitating sera on being kept some time. It is well known, however, that the same precipitation takes place in normal sera, kept under the most favourable conditions (UHLENHUTH). This point of view has been disputed by WEIL who has gone back to the older view of VON DUNGERN, on the basis of numerous precipitations he carried out with crystallised egg albumen. WEIL claims that, if a pure protein like crystallised egg albumin is used for immunisation, antigen and antibody are never found simultaneously in the blood stream. (1)

This point, however, remains an open question and still awaits a definite solution.

The results obtained by our experiments do not seem to be entirely devoid of interest. We thought that, for VON DUNGERN's opinion to prevail, experimentally, one more road lay open to research, and that this was the one which, taking into account the term of incubation of the precipitins for the different fractions of antigenic serum employed, would indicate whether each fraction really determined a different and approximately specific incubation term in the same animal species. Although enormous individual oscillations in one species are known in relation to the capacity of production of the antibodies which interest us, we began the study of a series of animals, resolved to examine the question from this point of view. As multiple injections shorten the period of incubation, while, at the same time they reduce the period of permanence of precipitinogen in circulation, we only made use, for our experiments, of animals which furnished precipitins after one injection alone. As it is also very likely that the different precipitinogens do not maintain themselves in the same proportion in the sera of the animals of one species, we always used horse serum obtained from one blood-letting alone.

(1) WEIL, cited in ZINSSER, Infection and Resistance, 1918, page 271.

1rst Series of experiments:

Four rabbits of approximatively the same weight were inoculated with 10 cc. of normal horse serum and bled on the 4th, 5th, 9th and 16th day after inoculation. The sera, after having been separated, were titrated for their precipitating value, not only by making use of dilutions of the precipitinogen, but also by using dilutions of the precipitating serum itself in the presence of a dilution of precipitinogen at 1 to 100.

4th day serum precipitating up to 1/1.000 and precipitated, diluted at 1/2.

5th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated, diluted at 1/2.

9th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated, diluted at 1/8.

16th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated, diluted at 1/32.

The precipitating sera were used unaltered in the proportion of 0,5 and the precipitinogen in decreasing proportions from one half down to 1/64.

1rst Series: 16th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 4th day serum—ring up to 1/64.

2nd Series: 16th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 5th day serum—ring up to 1/64.

3rd Series: 16th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 9th day serum—ring up to 1/32.

4th Series: 9th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 4th day serum—ring up to 1/16.

5th Series. 9th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 5th day serum—ring up to 1/16.

6th Series: 9th day Precip. Ser. 0,5+0.5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 16th day serum—ring up to 1/2 ♂

7th Series: 5th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc. of 1/2, 1/4, 1/0, up to 1/64 4th day serum—ring up to 1/2 ♀

8th Series: 5th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 9th day serum—ring up to 1/4 ♂

9th Series: 5th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 16th day serum—ring up to 1/16 ♂

10th Series: 4th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 5th day serum—ring up to 0.

11th Series: 4th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 9th day serum—ring up to 1/4 ♂

12th Series: 4th day Precip. Ser. 0,5+0,5cc of 1/2, 1/4, 1/8, up to 1/64 16th day serum—ring up to 1/16 ♂

2nd Series of experiments.

Three rabbits of approximately equal weight were inoculated subcutaneously with 15 cc. of normal horse serum and were bled on 4th, 10th and 16th days.

16th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated diluted at 1/32.

10th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated diluted at 1/16.

4th day serum precipitating up to (?) and did not precipitate when diluted.

The 10th day serum was kept in the refrigerator for more than six days before realising the following experiments:

1rst Series: 0,5 of 16th day Precip. Serum + 0,5 of 1/2 etc. 1/128 4th day serum 1/128
2nd « « « « « « + « « « « « 10th « « 1/64
3rd « « « 10th « « « + « « « « « 4th « « 1/64
4th « « « « « « « + « « « « « 16th « « 1/16 ♂
5th « « « 4th « « « + « « « « « 10th « « 1/16 ♂
6th « « « « « « « + « « « « « 16th « « 1/32 ♂

3rd Series of experiments:

Four rabbits were inoculated with 15 cc. of normal horse-serum and were bled respectively on the 6th, 10th, 16th and 21th days.

21th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated diluted up to 1/32.

16th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated diluted up to 1/32 with 1/100 Antigen.

10th day serum precipitating up to 1/10.000 and precipitated diluted up to 1/16.

6th day serum precipitating up to 1/1.000 and precipitated diluted up to 1/4.

The precipitate obtained with the 10th day serum in the tube with 1/100 of precipitinogen was slightly smaller than with the 16th day serum and perceptibly more abundant than the one obtained with serum of 21 days.

1rst Series: 0,5 of 21rst day Precip. Serum + 0,5 of 16th day Serum (diluted up to 1/256) 1/64.
2nd Series: 0,5 of 21rst day Precip. Serum + 0,5 of 10th day Serum 1/128
3rd Series: « « « « « « + « « 6th « « 1/256
4th Series: « « 16th « « « + « « 21th « « 1/8 ♂
5th Series: « « « « « « + « « 10th « « 1/64
6th Series: « « « « « « + « « 6th « « 1/256
7th Series: « « 10th « « « + « « 21th « « 1/16 ♂
8th Series: « « « « « « + « « 16th « « 1/16 ♂
9th Series: « « « « « « + « « 6th « « 1/128
10th Series: « « 6th « « « + « « 21rst « « 1/32 ♂
11th Series: « « « « « « + « « 16th « « 1/32 ♂
12th Series: « « « « « « + « « 10th « « 1/16 ♂

From these results one may infer:

a) That precipitinogen circulating in the serum of previously treated animals is only demonstrable by precipitating sera of a posterior date of bleeding.

b) That, when in a mixture of two precipitating sera, the one containing the more recent precipitins is taken for precipitant serum, precipitation never goes beyond the tube in which the serum of posterior date, diluted, is able to precipitate horse-serum at 1/100. (In the tables above, the arrows indicate the sense in which the precipitation produces itself; the precipitation diffuses in the serum that acts as precipitant, provided certain technical precautions are respected, every time the precipitate is not very dense, which is nearly always the case.)

c) That, (within certain limits) the precipitinogen-precipitation increases in proportion to the length of the interval of bleeding between the two sera.

4th Series of experiments:

A rabbit, inoculated with 15 cc. of normal horse serum and bled at the end of 26 days, furnished serum, precipitant up to 1/1.000.000.

A rabbit (serum n° 1), inoculated with 5 cc. of normal horse serum and bled six days afterwards, demonstrated a serum precipitant up to 1/1.000.

0,5 serum n° 1+0,5 of 1/2 etc. 1/256 serum n° 2. No precipitation.

0,5 serum n° 2+0,5 of 1/2 etc. 1/256 serum n° 1. No precipitation.

0,5 26th day's serum+0,5 of 1/2 etc. 1/256 serum n° 1. Precip. up to 1/64.

0,5 26th day's serum+0,5 of 1/2 etc. 1/256 serum n° 2. Precip. up to 1/265.

A rabbit was inoculated.

On Feb. 12th 1920 with 15 cc. normal horse serum.

On Feb. 14th 1920 with 10 cc. normal horse serum.

On Feb. 16th 1920 with 10 cc. normal horse serum

and bled on Feb. 20th 1920. That is 8 days after the first injection.

The serum 1 was precipitant up to 1/100.000.

A rabbit was inoculated with 15 cc. normal horse serum and bled eight days afterwards.

Adopting the same criterium as in the previous experiments, the *mixture of these two sera gave no precipitation.*

Two rabbits received subcutaneously 15 cc. of normal horse serum and were bled on the 1th and 10th day afterwards.

One of the sera precipitated up to 1/10.000, the other one which was slightly hemolysed, would not go beyond 1/1.000.

The serial mixture of these two sera, *would also not furnish precipitates even using the sera in their natural condition.*

Therefore one concludes that:

a) Precipitating sera with identical bleeding period, although they should have the same precipitating titre and very great differences in the quantity of precipitinogen, do not usually precipitate when mixed.

b) Precipitating sera with the same bleeding period, with different precipitating titres although with approximately equal quantities of precipitinogen, did also not produce the formation of a ring.

We must add, however, that sometimes upon mixture of precipitating sera with same period of bleeding (10th day, 16th day) we would obtain subsequently the slow appearance of a diffuse ring, undoubtely due to a phenomenon of precipitation.

These reactions were however very weak in comparison with those obtained with sera of different dates in the above mentioned series. We are therefore led to believe that the incubation terms of the precipitins in the animal species of are only *approximately* identical and that the character of precision evinced by our experiments is due to the the spaces of time sufficiently large to exceed individual oscillations.

5th Series of experiments:

A rabbit inoculated with 15 cc. of normal horse serum and bled on the 21rst. day, furhished precipitins up to 1/10.000.

This serum mixed with the one of 16 days already previouly employed and of a precipitating titre of 1/1.000.000, did not demonstrate precipitation in any of the tubes.

Two rabbits of approximately equal weight were inoculated with 15 cc. normal horse serum and four days later with another 10 cc.; seven days after the last injection one of them (n° 1) was bled of 50 cc. and the other (n° 2) only of 10 cc.

The precipitating titre did not exceed 1/10.000 and the mixture in any proportion of the two sera would not cause the appearence of a ring. Five days afterwards these animals were bled once more. Nr. 1 serum precipitated only up to 1/1.000, nr. 2 still up to 1/10.000.

1rst series: 0,5 serum nr. 1 (2nd bleeding)+0,5 1/2 etc. serum nr. 1 of the 1rst bleeding: 0.

2nd series: 0,5 serum nr. 1 (2nd bleeding)+0,5 1/2 etc. serum nr. 2 of the 2nd bleeding: 0.

3rd series: 0,5 serum nr. 2 (2nd bleeding)+0,5 1/2 etc. serum nr. 1 of the 1rst bleeding: 1/16.

4th series: 0,5 serum nr. 2 (2nd bleeding)+0,5 1/2 etc. serum nr. 2 of the 1rst bleeding: 1/8.

From these results one might draw the following conclusions:

On the 21rst day the precipitinogen has not remained in circulation in the rabbit in appreciable quantities when one injects 15 cc. horse serum.

When a vaccinated animal is bled twice, with a regular space of time between, although the precipitin titre should not have augmented, the serum of later date acquires the property of demonstrating the precipitinogen of the one of the first bleeding. If, on the other hand, the amount of blood taken at the first bleeding is sufficiently large, the serum of this animal not only shows a very noticeable reduction in its titre, but also does not acquire the property of precipitating the serum of earlier date. It appears, therefore, that in this case the bleeding not only removes for the greater part the precipitins already in circulation, but also the precipitinogen circulating in the blood; this circulating precipitinogen must therefore be considered as being indispensable for the formation of the precipitins which precipitate the precipitinogen of the first bleeding. *Everything occurs, in the process of vaccination, as if the different serum fractions were removed from the circulation, as the antibodies which precipitate them make their appearance in the blood, antibodies these that sum quantitatively up to the twenty first (21rst) day, or perhaps even later.*

One more fact might guide in this study. It is known that many antibodies function, if not directly as precipitinogens, at any rate as substances very nearly related to these bodies (KRAUS and PRIBRAM). DEHNE and HAMBURGER announced in 1904 that anti-horse rabbit sera were able to produce a fall, together with the precipitate, the tetanus antitoxin of horses actively immunised against this toxin.

That this reaction was absolutely specific and was not to be accounted for as a physical phenomenon was most convincingly proved by the works not only of these authors but of KRAUS and PRIBRAM and of V. EISLER and TSURU.

We began by ascertaining up to what space of time tetanus toxin could be found circulating in rabbits inoculated with sufficient quantities, and the results we obtained resemble those obtained by the authors who studied this point (DENNE and HAMBURGER, TIZZONI etc.).

Three rabbits of medium size were inoculated at intervals of five days. with 3, 5, 7 cc. of antitetanus serum representing a total of 15.000 A. U. As we carefully ascertained, the rabbit serum had previously shows itself indifferent with regard to the antitoxin.

13 days after the last inoculation we had still two animals which were bled and furnished serum for examination.

Reaction of precipitins present:

1rst Guinea-pig—1/2000 antiser.—2 cc. physiol. salt sol.—Cont. dosis: Died of tet. on 5th day.

2nd Guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. physiol. salt sol.—Cont. dosis: Survived.

3rd Guinea-pig — 1/2000 antiser. — 2 cc. serum of rabbit sol. nº 1.—Cont. dosis: Died tet. 8th day.

4th Guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2

cc. serum of rabbit sol. nº 1.—Cont. dosis: Survived.

5th Guinea-pig — 1/2000 antiser. — 2 cc. serum of rabbit sol. nº 2.—Cont. dosis: Died tet. 7th day.

6th Guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. serum of rabbit sol. nº 2.—Cont. dosis: Survived.

7th Guinea-pig — 2 cc. ser. rabbit nº 1—0,0025 tet. toxin. Survived.

8th Guinea-pig — 2 cc. ser. rabbit nº 2—0,0025 tet. toxin. Survived.

9th Guinea-pig — 0,0005 tet. toxin. Died between 4th and 5th day.

The rabbit sera together with the dilutions of antitoxin serum were placed for an hour in the incubator at the end of which time the control-dosis of toxin was added, it being then allowed to stand for another hour at room temperature. The antitoxin employed was the same throughout and titration was always made by the ROSENAU ANDERSON method.

It thus becomes evident that thirteen days after the last inoculation, there still existed appreciable quantities of horse antitoxin in circulation, although precipitins were by then abundant.

Eight days later, after death of one of the animals, the remaining one was bled, and serum examined.

Reaction of precipitins present.

1rst Guinea-pig — 1/2000 antiser. — 2 cc. physiol. s. sol. Cont. dosis, Local tet. 3rd day, death on 4th.

2nd Guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. physiol. s. sol. Cont. dosis.—Healthy, survived.

3rd Guinea-pig — 1/2000 antiser. — 2 cc. serum rabbit nº 1 Control dos. Diaphragmatic tet. Died afternoon of 2nd day.

4th Guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. serum rabbit nº 1 Control dos. Diaphragmatic tet. Local tet. evident on 1rst day. Found dead next morning.

As will be seen this time, the antitoxin was entirely eliminated from antitoxic serum. We were able to ascertain beyond doubt that inactivation for half an hour at 56º does not in any way modify the toxin-inactivating property, and like DEHNE and HAMBURGER, we were easily able to regenerate antitoxic property by dissolving the precipitate in as excess of precipitinogen (normal horse serum). Unless the antitoxin is assumed to play the role of a precipitinogen, the interpretation of the phenomenon seems to remain very obscure, seeing that, once it is bound to its corresponding toxin, the precipitating serum is unable to liberate the toxin from it's antibody, as we ourselves were able to ascertain.

1rst guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. Precip. ser. — Control dosis.

2nd guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. Control dosis Precip. sera.

3rd guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. physiol. salt. sol. — Control dosis.

In the case of the second guinea-pig the toxin, after an hour's contact with the antitoxin, was left for another hour together with the precipitating serum in the incubator.

The first guinea-pig succumbed to tetanus within two days. The other two survived. Forty two days after the last inoculation, the serum of this same animal, after being bled once more, clearly retained the antitoxin-inactivating property.

Five rabbits were inoculated subcutaneously with 15 cc. of normal horse serum and bled on 6th, 10th, 16th, 21th and 26th day.

(Sera used as on pag. 36.)

1rst guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. 6th day-Precip. serum.—Control dosis.

2nd guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. 10th day-Precip. serum.—Control dosis.

3rd guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2

cc. 16th day-Precip. serum. — Control dosis.

4th guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. 21th day-Precip. serum.—Control dosis.

5th guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. 26th day-Precip. serum.—Control dosis.

6th guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc.—physiol. salt. solution.

On the second day after inoculation the 3rd, 4th and 5th guinea-pigs died of tetanus; the remaining three kept through out in good health. From this may be deduced that the precipitins capable of removing the antitoxin, only make their appearance towards the 16th day after inoculation, irrespectively of the precipitating titre of serum or of the amount of precipitate formed.

A rabbit was given three subcutaneous inoculations of normal horse serum in the following order:

On Jan. 10th, 1920 — 15 cc.

On Jan. 12th, 1920 — 10 cc.

On Jan. 15th, 1920 — 10 cc.

Bled on the 21rst it demonstrated precipitins up to 1/100.000 and with abundant precipitation up to 1/1000 of precipitinogen.

On Jan. the 23 1920.

1rst Guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. Precip. serum.—Control dosis.

2nd Guinea-pig — 1/2000 antiser. — 2 cc. Precip. serum.—Control dosis.

3rd Guinea-pig — 1/1000 antiser. — 2 cc. physiol. salt. sol. Control dosis.

4th Guinea-pig — 1/2000 antiser. — 2 cc. physiol. salt. sol. Control dosis.

4th guinea-pig died within 60 hours; 2nd with 72. The remaining two survived.

A rabbit vaccinated with concentrated antitetanic serum (U. S. Standard), by means of three inoculations, at five days interval each time, was bled 24 days after the last injection; it's serum precipitated the antitoxin as well as the ones previously used.

With diphteria antitoxin, however, in spite of all our efforts we were not able to verify the disappearance of antitoxin by the use of precipitating sera, although we had used antitoxic sera obtained from different sources and of sufficiently elevated titre to unable their being employed for titration in as high as those in used in the case of tetanus antitoxin; and although all the precipitating sera had their activity againat tetanus antitoxin controlled.

Guinea-pig of 250 grammes.

1rst Guinea-pig — 1/700 antidiph. serum. — 2 cc. 21th day Precip. S.—Cont. dosis.

2nd Guinea-pig — 1/1000 antidiph. serum. — 2 cc. 21th day Precip. S.—Cont. dosis.

3rd Guinea-pig — 1/700 antidiph. serum. — 2 cc. phys. Salt. sol. S. — Cont. dosis.

4th Guinea-pig — 1/1000 antidiph. serum — 2 cc. phys. Salt. sol. S. — Cont. dosis.

Of these guinea-pig the last one died between the fourth and the fifth day, the second one five hours afterwards, both of them with congestion of adrenals and hemorrhagic infiltration at the site of inoculation.

250 gr. guinea-pigs. Precipitating serum of 36 days.

1rst guinea-pig — 0,1 standard antis. — 2cc. Precip. S. — 0,7 toxin (control dosis.

2nd guinea-pig — 0,1 standard antis. — 3 cc. Precip. S. — 0,7 toxin (control dosis.

3rd guinea-pig — 0,1 standard antis. — 2 cc. phys. s. sol. — 0,7 toxin (control dosis.

These guinea-pigs died one after another at short intervals on the night between fourth to fifth day.

Precipitating serum of 30 days.

1rst pigeon — 1/800 anti-dipht. s.—2 cc. precip. S.—Control dosis.

2nd pigeon — 1/1000 anti-dipht. s. —2 cc. precip. S.—Control dosis.

3rd pigeon — 1/800 anti-dipht. s.—2 cc. physiol. salt. sol. — Control dosis.

4th pigeon — 1/1000 anti-dipht. s. —2 cc. physiol. salt. sol. — Control dosis.

All the animals survived, except the last one which died on the 6th day.

Notwithstanding our eagerness to provide the best conditions for obtaining positive results, we found it invariably impossible to remove the diphteria antitoxin by means of anti-horse rabbit serum.

These results explain however the reason why the experiments of KRAUS and PRIBRAM entirely disagree with those of DEHNE and HAMBURGER as to the precipitation of antitoxin in vivo, for while the latter worked with tetanus antitoxin the others employed diphtheria antitoxin in their investigations. For this reason KRAUS and PRIBRAM's conclusions on this subject do not possess an unquestionable value.

But not only with diphtheria antitoxin did we have negative results; the experiments with bothropic antivenin led us to similar results. These results are, however, more open to criticism, seeing that for the titration of serum it is not possible to make high dilutions of precipitinogen, which according to K. and P. is essential in obtaining reliable results. To obviate this drawback, we used excessive quantities of precipitating serum which had, as in the case of the diphtheria antitoxin, been previously verified with tetanus antitoxin.

The antivenin used was obtained from the Serum-therapeutic Institute of Butantan, State of São Paulo, and had titration indicated on the basis of 1 cc. of serum corresponding to 1,6 of poison of *Lachesis lanceolatus*. The poison we obtained from Bello Horizonte. All the titrations were made by the process of VITAL BRAZIL. Before adding the poison the tubes were left with antitoxic and precipitating serum during 2 hours in the incubaton at 37° Centigrade. After the addition of the poison they remained yet another hour at 37° C. before being injected in the axillary vein of the pigeon.

1rst pigeon — 1 cc. Bothr. Ser. 3 cc. Precip. Ser.—1,6 poison Lachesis lanceolatus.

2nd pigeon — 1 cc. Bothr. Ser. 3 cc. Precip. Ser.—1,6 poison Lachesis lanceolatus.

3rd pigeon — 1 cc. Bothr. Ser. 1 cc. Precip. Ser.—1,6 poison Lachesis lanceolatus.

4th pigeon — 1 cc. Bothr. Ser. 3 cc. dist' water — 1,6 poison Lachesis lanceolatus.

5th pigeon — 1,6 of poison of Lachesis lanceolatus.

All the pigeons kept in good health and survived the inoculation, except the last one which died immediately.

2nd Series:

1rst Pigeoon — 1/10 Bothr. serum 2 cc. Precip. S. — 0,16 poison L. lanceolatus.

2nd Pigeon — 1/10 Bothr. serum 1,5 Precip. S. — 0,16 poison L. lanceolatus.

3rd Pigeon — 1/10 Bothr. serum 1cc. Precip. S. — 0,16 poison L. lanceolatus.

4th Pigeon — 1/10 Bothr. serum 2cc. phys. s. s. 0,16 poison L. lanceolatus.

5th Pigeon — 0,16 poison of Lachesis lanceolatus.

All these animals resisted without alteration of their state of health excepting the last one which died within five minutes.

The scarcity of the serum in the market prevented us from performing other experiments and from determining titrations with Crotalus (rattle-snake) antivenin The precipitating serum emplo-

yed in these experiments was of 24 days.

Still more interesting were the results obtained with tetanus antitoxin and human anti-horse precipitating serum.

A. S. received in two days 300 cc. of antipest serum in three injections, two in the vein and one subcutaneously. Last injection on Nov. 11th, 1919.

On Nov. 19th, 1919 he was bled and the serum demonstrated:

Presence of precipitinogen up to a dilution of 1/10.

Presence of precipitins up to a dilution higher than 1/1000.

Absence of precipitin for tetanus antitoxin.

On Nov. 26, 1919, bled once again his serum demonstrated:

Presence of precipitinogen up to 1/10.

Presence of precipitins up to 1/1000.

Complete absence of precipitins for tetanus antitoxin.

On Dec. 14, 1919, bled for the last time, the patients serum upon being analysed demonstrated:

Presence of precipitinogen up to 1/2.

Presence of precipitins up to 1/10.000

Absence of precipitin for tetanus antitoxin.

C. R. received 320 cc, antipest serum in three intravenous inoculations, the last one on Nov. 11, 1919.

On Nov. 22, 1919, after bleeding the serum showed:

Presence of precipitinogen up to 1/10.

Presence of precipitins up to 1/1000.

Absence of precipitin for tetanus antitoxin.

On Dec. 5, 1919.

Presence of precipitinogen up to 1/2.

Presence of precipitins up to 1/1000.

Absence of any action upon tetanus antitoxin.

On Dec. 29, 1919.

Absence of precipitinogen.

Presence of precipitins up to 1/1000.

Absence of any harmful effect for tetanus antitoxin.

The precipitinogen was searched for with the aid of anti-horse precipitating rabbit serum, of 17 days. The titrations of the antitoxin were performed with such an approximation to the antitoxic titre of serum that a distinct local tetanus was obtained in the guinea-pigs.

Later on, we had opportunitity of examining three more individuals, but we exempt ourselves from exposing the results in detail, as they do not in any way differ from the ones mentioned. In no case could we obtain a result that might in any way be considered as doubtful.

This demonstrates, therefore, that the precipitinogens for certain animal species may not act as such on others ones, although these may react with precipitins on other fractions of the serum employed.

Studies on rabbits, with dysentery antitoxin gave us completely different results.

Technic:

We placed 0,1 of anti-Shiga serum, concentrated 6 times, together with precipitating serum of 16 days, of 4 days, and normal rabbit serum for two hours at 37° Centigrade. This mixture, after centrifugation and decantation, inoculated in the marginal vein of the ear, was followed after half an hour, and this time in the vein of the opposite ear, by an inoculation of 0,4 of Shiga extract.

1rst Rabbit — 1 cc. 16th day ser. — 0,1 Shiga s. — 0,4 Shiga extract.

2nd Rabbit — 1 cc. 4th day ser. — 0,1 Shiga s. — 0,4 Shiga extract.

3rd Rabbit—1 cc. norm. rabb. ser.—0,1 Shiga extract.

4th Rabbit — 0,1 Shiga s. — 0,4 Shiga extract.

The first rabbit died within three days with generalised paralysis, the second one, which had shown itself to be almost entirely paralytic from the second day on, resisted until the ninth day. The remaining two animals showed no no alteration of their state of health.

Upon repeating these experiments we obtained similar results. The first rabbit died on the 3rd day, the second on the 7th, with initial paralysis on the 2nd. The precipitating serum of 4 days. used in this case, had proved itself to be entirely incapable of removing the tetanus antitoxin from the antitoxic serum. Extending our investigations to the agglutinins, we employed not only the technic of KRAUS and PRIBRAM, starting from initial dilutions to make the successive dilutions, but using also for every dilution to which germs had to be added, 0,5 of precipitating serum.

Technic:

To each tube containing 0,5 of precipitating serum were added 0,5 of dilutions at 1/25, 1/125, 1/250, 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/4000 of dysentery agglutinating serum and after two hours in the incubator at 37°. Centigrade, the precipitates formed were removed by centrifugation and decantation. Placing now in each tube 1 cc. of an emulsion of Shiga bac., the mixture was placed in the incubator for another two hours and then results were read.

We made several series for the precipitins we had, of 4, 10, 16, 21, and 26 days.

Agglutination was positive up to 1/16000 (last tube) in the series in which 4th day precipitins were used and completely negative in all the others, right from the first tube, although the dilution of the serum employed did not exceed 1/25.

A control series showed that the serum was agglutinating up to 1/500.

The agglutination up to 1/16000 in the series of precipitins of the 4th day was due to the rabbit serum used.

For typhus agglutinins the serum employed was agglutinating for the sample used up to 1/10.000.

As before for dysentery bacilli the agglutination was negative with precipitins of 10th, 16th, 21th, and 26th. days and positive with the one of the fourth day. Besides the technic indicated above, we made series of dilutions with agglutinating serum at 1/500 and 1/1000 in 0,5 cc. which we added to 0,5 of the precipitating sera. After the lapse of time indicated for remaining in the incubator and after removing the precipitate, we took the remaining liquid for making dilutions which we mixed with emulsions of typhus bacilli permitted up to obtain titres of 1/1000, 1/2000, 1/3000, 1/8000, 1/16.000, 1/32.000, 1/64.000.

The reading permitted here also with the precipitins of the 4th day positive agglutination up to 1/32.000; this was probably owing to the rabbit serum.

These indications show that different antibodies are to be found in circulation as parts of different precipitinogens, which can be partially distinguished by the delay with which the production of precipitins takes place in the organism of the rabbit. Thus the dysentery antitoxin is already partially precipitated by precipitins of the fourth day, whilst agglutinins for the same germ are only precipitated by sera of the tenth day and the antitoxin is only removed from antitoxic serum by sera older still (16 days).

For the two agglutinins we investigated, the precipitation began with sera of the same date, whereas with the diphtheria and bothropic antitoxins it was always impossible to obtain positive results, in spite of all the trouble we took

in the examination of the matter. Thus we come to the conclusion that the the different antibodies are found tied to different precipitinogens, some of which can be easily differentiated and others in which this differentiation is affected by the fact that they cause a more or less equal period on incubation in the rabbit. KRAUS and PRIBRAM even think on account of the fact that some precipitins remove from a certain quantity of determined sera one germ alone and need very much more precipitating serum to produce the same effect in agglutinins of other animals of the same species, that the same antibody may be tied to different precipitinogens in the same animals (horse). This conclusions seem to us to go to far and we believe that it is really rather a case of a quantitative ratio between the precipitinogen to which the agglutinin is tied and the part of this same precipitinogen without agglutiniting groups which circulates certainly side by side with it, and which is, precipitated by the same kind of precipitins.

As seemed most strongly indicated, we started the study of the relations of precipitins to other antibodies (agglutinatins and antitoxins).

A rabbit marked with picric acid, was inoculated on:

Jan. 24, 1920 with 10 cc. of an emulsion of B. mallei killed.

Jan. 28, 1920 at 70° C. by two hours exposure and simultaneously.

Feb. 2, 1920 with 10 cc. of normal horse serum.

Bled on Feb. 9, 1920 it gave precipitating serum up to 1/10.000 and agglutinins up to 1/1600.

Technic:

To 0,5 of rabbit serum were added decreasing quantities of horse serum at 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10.000, 1/100.000. After two hours in the incubator at 37° C. and 24 hours in the refrigerator, the precipitates formed were removed by centrifugation and decantation and the supernatant liquids were diluted in such a way as to obtain serum dilutions at 1/200, 1/400 etc. up to 1/6400, after having added to each tube 1 cc. of an emulsion of the germs. Control tubes treated in the same way had the precipitinogenic horse serum subtituted by physiologic saline solution.

Reading was done after 24 hours in the incubator at 37° C. In all the tubes, even in the first, one, in which precipitation was thy plentiful, the remaining liquid agglutinated the germs up to 1/1600 as in the control tubes.

The conclusion to be drawn is that the precipitins are not tied in the serum to the fraction to which the agglutinins belong and that the removal of this fraction does not give the agglutinins either greater affinity or greater activity for the specific germs.

With the antitoxins we were led to a similar result:

A horse was inoculated on:

Sep. 17, 1919 with 100 cc. of tetanus toxoids.

Sep. 25, 1919 with 250 cc. of tetanus toxoids.

Oct. 6, 1919 with 250 cc. of tetanus toxoids.

Oct. 17, 1919 with 300 cc. of tetanus toxoids.

Oct. 29, 1919 with 400 cc. of tetanus toxoids.

Nov. 9, 1919 with 400 cc. of tetanus toxoids.

Nov. 19, 1919 with 450 cc. of tetanus toxoids.

Nov. 27, 1919 with 100 cc. of toxin and formol (3 days contact).

Dec. 10, 1919 with 150 cc. of toxin.

Dec. 18, 1919 with 200 cc. of toxin.

Dec. 19, 1919 with 500 cc. of normal sheep serum.

Dec. 30, 1919 with 250 cc. of toxin.

Dec. 31, 1919 with 250 cc. of normal sheep serum.

Bled on Jan. 9, 1920, this animal furnished antitoxic serum with 500 A. U. per cubic centimetre and precipitating up to 1/100.

On Jan. 15, 1920, to 0,5 of the serum of this horse sheep serum diluted at 1/10 was added. After two hours at 37°C. and 24 hours in the refrigerator it was centrifugated and the liquid poured off was diluted in such a manner that the antitoxic serum became diluted at 1/1.000, 1/2.000, and 1/5.000. Controls accompanied this process with physiologic saline solution instead of sheep serum. To each dilution was added the control dosis and after an hour's interval the inoculations were made on guinea pigs of 350 grammes.

1rst g.-p. — 1/1000 precipitated antitox. s. — 2 cc. phys. s. Cont. dos.

2nd g.-p. — 1/2000 precipitated antitox. s. — 2 cc. phys. s. Cont. dos.

3rd g.-p. — 1/5000 precipitated antitox. s. — 2 cc. phys. s. Cont. dos.

4th g.-p.—1/1000 non precipitated antitox. s. — 2 cc. phys. s. Cont. dos.

5th g.-p.—1/2000 non precipitated antitox. s. — 2 cc. phys. s. Cont. dos.

6th g.-p.—1/5000 non precipitated antitox. s. — 2 cc. phys. s. Cont. dos.

The third and the sixth guinea pigs died of tetanus on Jan. 20; the remaining four survived.

A goat was inoculated on:

Oct. 28, 1919 with 50 cc. of toxoids.
Nov. 7, 1919 with 100 cc. of toxoids.
Nov. 17, 1919 with 100 cc. of toxoids.
Nov. 27, 1919 with 150 cc. of toxoids.
Dec. 10, 1919 with 150 cc. of toxoids.
Dec. 20, 1919 with 20 cc. of toxin.
Dec. 30, 1919 with 40 cc. of toxin.
Jan. 9, 1920 with 50 cc. of toxin.
Jan. 19, 1920 with 50 cc. of toxin.
Jan. 20, 1920 with 100 cc. of normal horse serum.
Jan. 29, 1920 with 50 cc. of toxin.
Jan. 30, 1920 with 100 cc. of normal horse serum.

This animal was bled on Feb. 2, 1920; the serum contained 50 U. A. per cubic centimetre and precipitated up to 1/1000.

The technic used in this case was exactly equal to the preceding one, the serum was precipitated by a dilution at 1/10, the precipitate being more abundant in this tube.

1rst guin. pig.—1/500 precipitated ant. s.—2 cc. phys. sal. sol. control dosis.

2nd guin. pig.—1/1000 precipitated ant. s.—2 cc. phys. sal. sol. control dosis.

3rd guin. pig.—1/500 non precipitated ant. s.—2 cc. phys. sal. sol. control dosis.

4th guin. pig.—1/1000 non precipitated ant. s.—2 cc. phys. sal. sol. control dosis.

Second and fourth guinea pigs died in the course of the second day, third one during the afternoon of the fourth day and first one was found dead on the fifth day.

Thus here also one sees that the removal of the fraction of the serum which constitutes in them their precipitating part is entirely independent of the part formed by antitoxin in animals of a different species. The removal of this part does not give the sera higher antitoxic powers nor greater affinity for the toxin.

Rio, March the 12th, 1920.

Uber eine Amöbe der Gattung VAHLKAMPFIA beim Menschen

von

CESAR PINTO.

(Tafel. 7).

Die Gattung *Vahlkampfia* CHATTON et BONNAIRE, 1912 wurde für die freilebenden Amöben aufgestellt, die unter dem Namen *Limaxamöben* bekannt waren. Es sind Rhizopoden von 5—30 mikra Laenge, bilden gewöhnlich nur ein Pseudopodium (Lobopodium), welches nach vorn gerichtet ist, mit oder ohne Vakuolen; einfacher Kernbau, Kernteilung (Naeglers Promitose) und endlich Zysten mit einem Kern.

ALEXEIEFF behauptet, dass die *Vahlkampfia* niemals Parasiten seien und dass ihre Zysten den Verdauungsapparat verschiedener Tiere passiren können und die Amöben die Zysten erst in den Faeces verlassen.

Diese Beauptung ALEXEIEFFS widerspricht den Beobachtungen von CHATTON, BONNAIRE, WHITMORE, HARTMANN, HOGUE und den meinigen. Die beiden ersten Forscher fanden vegetative Formen der *Vahlkampfia* im Stuhl des Menschen; WHITMORE kultivierte die *Vahlkampfia whitmorei* HART, im Eiter eines Leberabszesses und dreizehnmal im Kote von Dysenteriekranken; HOGUE beobachtete Exemplaire der fraglichen Gattung in Austern.

In einem Falle von Dysenterie mit zahlreichen *Giardia intestinalis* (LAMBL) stellte ich die *Vahlkampfia macronucleata* im Kote fest, ebenso fand ich sie in einem andern Falle von Amöbendysenterie *(Entamoeba histolytica* SCH.,)

Gattung *Vahlkampfia* CHATTON et BONNAIRE, 1912.

Syn: *Naegleria* ALEXEIEFF, 1912

Diagnose: «Amöben von geringer Grösse; Bewegung gewöhnlich mittelst eines breiten Pseudopodiums (Lobopodiums); manchmal bilden sich auch viele Pseudopodien. Besitzt eine pulsierende Vakuole.

Einkernig mit grossem dichtem und chromophilem Karyosom, arm an peri-

pherischem Chromatin (Protokaryon). Kernteilung charakteristisch durch grosse Polkörper, welche im Karyosom entstehen. Die Aequatorialplatte bildet sich hauptsächlich auf Kosten des peripherischen Chromatins.

Einkernige Zysten mit chromatoiden Körpern, welche in den alten Zysten verschwinden.

Im Flagellarzustand mit zwei Geisseln».

F. DOFLEIN rechnet die Amöben der Gattung *Vahlkampfia* zu einer Familie, der er *Bistadiidae* DOF., nennt. Nach den Regeln der zoologischen Nomenklatur sollte der Name einer Familie, der typischen Gattung entnommen werden, und so müsste eigentlich die Bezeichnung *Trimastigamoebidae* vorgehen, weil die Gattung *Trimastigamoeba* WHITMORE zuerst aufgestellt wurde.

Diagnose der Familie: «Rhizopoden, die dadurch charakterisiert sind, dass sie ein Geisselstadium und ein geisselloses besitzen. In diesem letzten Stadium besitzen die Protozoen amöbenartige Bewegung, haben Lopodien und nähren sich nach Art der Amöben. Es scheint, dass es Formen mit einer, zwei und drei Geisseln gibt. Teilung kennt man nur im Amöbenstadium. Die Formen sind einkernig und haben einen Kern mit bläschenförmigen Karyosom. Zysten einkernig.

Typische Gattung: *Trimastigamoeba* WHITMORE.

Vahlkampfia macronucleata PINTO, 1921.
(Tafel 7).

Bibliographie: C. PINTO, 1921, *in* Brazil-Medico. Anno 35, vol. 1, N°. 18, pp. 222—3.

Grösste Länge 14,4 mikra; Breite 8 mikra. Figur 1 der Tafel 7 stellt das grösste gefundene Exemplar dar. Es besteht kein Unterschied zwischen Ektoplasma und Entoplasma, welches BUETSCHLI's Schaumstruktur besitzt; es hat weder Vakuole noch Einschlüsse. Der Kern lenkt im vegetativen Stadium durch seine Grösse sofort die Aufmerksamkeit auf sich, denn er nimmt die Hälfte der Breite des Rhizopoden ein und gibt ihm seine charakteristische Form. Sein Durchmesser beträgt 4 mikra. Eine deutliche Kernmembran existent nicht (Taf. 7 Fig. 1—5). Die Kernsaftzone (Taf. 7, Fig. 1—5) besitzt kein Chromatin; man sieht genau die Lininfäden, welche vom Karyosom ausgehen und nach der Kernperipherie laufen. Karyosom gross und rund (Taf. 7, Fig. 1) von 3,2 mikra Durchmesser. Figur 4 der Taf. 7 zeigt das kleinste Exemplar dieser *Vahlkampfia*, deren Kern ebenfalls gross ist und die chromatinarme Kensaftzone besitzt.

Praezystische Formen (Taf. 7, Fig. 6—9 rundlich, 9 mikra im Durchmesser; bei einer (Fig. 7) sieht man den Kern in der Teilung.

Habitat: Freilebende Amöbe beim Menschen.

Den Herren Dr. ALVARO LOBO, Dr. COSTA CRUZ und JULIO MUNIZ danke ich für das gelieferte Material.

Erklärung der Abbildungen.

Alle Zeichnungen wurden angefertigt von Ausstrichen menschlichen Kots, die mit Alkoholsublimat nach SCHAUDINN fixiert und nach HEIDENHAIN'S klassischer Methode gefärbt wurden.

Die Figuren 1, 4, 5, 7, 8 und 9 wurden gezeichnet mit dem Abbéschen Zeichenapparat in der Höhe des Arbeitstisches. Okular 5, Immersionsobjektiv 1/12. Mikroskop von ZEISS.

Die Figuren 2 und 3 wurden gezeichnet mit Okular 12 (Kompentionsokular) und Immersionsobjektiv 1/12; Fig. 6 mit Okular 4 und Imm. 1/12.

Figur 1 stellt die vegetative Form dar; man bemerkt den Anfang der Pseudopodienbildung am vorderen Teile des Rhizopoden. Grosser Kern mit rundem Karyosom, chromatinarme Kernsaftzone und Lininfäden, welche vom Karyosom zur Kernperipherie verlaufen. Keine Einschlüsse, keine Vakuolen.

Fig. 2, 3, 4 und 5 kleinere Formen der *Vahlkampfia macronucleata;* bei Fig. 2 sieht man eine Einbuchtung des Karyosoms.

Fig. 6, 7, 8 und 9 praezystische Formen der *Vahlkampfia;* in Fig. 7 sieht man die Kernteilung.

ENTOMOLOGICAL NOTES

II.

ON THE ANATOMY OF THE GENUS TRIATOMA.

Salivary apparatus

by

DR. ANTONIO LUIS do B. BARRETO.

Auxil. Assistant of the Instituto Oswaldo Cruz

(Plates 8—12).

In studying the salivary apparatus of the genus Triatoma we began by dissecting the specimens under liquid; this allows to observe the arrangement of the different parts of the apparatus *in situ* and to follow the delicate excretory ducts which connect the same. Needless to say, much labour and patience were required to prepare these delicate and fragile organs.

The positions of the different parts of the salivary apparatus in relation to the digestive tube were observed by means of stained sections of the thoracic block, embedded in parafine, after the indispensable fixation in 10 % formol.

Inclusions of the different glands in paraffine and celloidin, after fixation in sublimate-alcool, furnished sections which were used for histological purposes after staining with hematoxilin-eosine.

The salivary apparatus of the genus *Triatoma* is found at the level of the anterior part of the digestive tube and does not reach beyond the proventriculus. It is composed of three pairs of symmetrical glands, which differ in shape and position; they are connected by a system of excretory ducts and open into a small single organ, known as *salivary pump*, as

it expells the liquid formed in the glands.

In the following description I shall deal first with one half of the apparatus, that is the glands and ducts on the right side of the digestive tube, and afterwards with the impair organ *(salivary pump)* which expells the saliva.

Accessory gland.

The posterior gland is rounded, has very thin and transparent walls and is closely connected with the walls of the proventriculus by branches of the tracheas.

It is easily distinguished from the surrounding tissues, if the head of the specimen be severed on the day preceding examination, as the citrine liquid which accumulates within, distends its walls and makes it more conspicuous.

In adult specimens of *Triatoma megista* it has the following dimensions.

♂ Length: 1,35 mm. Width: 1,2 mm.

♀ Length: 1,4 mm. Width: 1,3 mm.

As for its structure, it is composed of a delicate basal membrane and a layer of flattened pavement cells. It is considered a mere deposit or receptacle of saliva, as expressed in the denomination *Accessory salivary gland.*

At the anterior and external pole of this gland begins an excretory tube, which is the *accessory duct;* it runs parallel with the oesophagus, penetrates into the cephalic cavity, describes a loop after which it runs in the opposite direction and finally opens into the middle or supplementary gland. The measurements of the accessory duct are as following:

♂ Length: total: 6,0 mm. to the: loop 3,5 mm. reflected part: 2,5 mm.
Width: greatest: 0,1 mm. smallest: 0,045 mm.

♀ Length: total: 7,5 mm. to the loop: 4,0 mm. reflected part: 3,5 mm.
Width: greatest: 0,12 mm. smallest: 0,050 mm.

Supplementary gland.

The supplementary gland is a little above the former one, at the side of the initial portion of the proventriculus. The connection between it and the principal gland is so close that some authors consider it a diverticle of the same.

It is pear-shaped and has the following dimensions:

♂ Length: 1,2 mm. Width: 0,62 mm.

♀ Length: 1,12 mm. Width: 0,64 mm.

The structure in the same as that of the accessory gland, that is a single layer of cells on a basal membrane. This histological identity leads me to consider it also merely as a receptacle of saliva.

The other end of the accessory duct opens in its middle part.

Principal gland.

The principal gland is directly connected with the supplementary gland and occupies a place in front and outwards of the same. It is easily distinguished from the others, which are light and transparent, by its remarkable opacity and dirty yellow color.

It is kidney-shaped and has the following proportions:

♂ Length: 1,25 mm. Width: 1,0 mm.

♀ Length: 1,37 mm. Width: 1,08 mm.

The histological structure of this gland is very different from that of the former, as it is typically glandular with high, polyedric glandular cells, often

opening into the cavity of the gland and showing granular protoplasm and a typical nucleus with chromatine in the shape of chromosomes.

This is the very organ by which the saliva is produced.

At the narrowest point, that is at the hilus (which is in close connection with the part of the supplementary gland where the accessory duct ends), begins the *principal duct* which is parallel to the first and enters the cephalic cavity, opening into the salivary pump, either independently or forming by anastomosis a single duct with the one of the opposite side.

The dimensions are:

♂ Length: 5,30 mm.
Width: 0,60 mm.

♀ Length: 6,40 mm.
Width: 0,65 mm.

Salivary pump.

The impair organ of the salivary apparatus, *salivary* pump or *receptacle* of the *Triatoma* is a conic chamber with strongly chitinised walls, inside which moves a very characteristic piston or embolus.

It is found in the cephalic cavity below the pharynx, on the ventral side of the body. The only way to distinguish its minor details is to sever the upper half of the head by two lateral incisions after keeping it for 8 to 10 days in a 40% solution of potash or soda.

At the anterior end this gland forms an elongated canal, coming into contact with the mandibles; posteriorly it is closed by a delicate and flexible membrane. The *embolus* is moved by a set of oblique, antagonistic, protracting and retracting muscles, the movement of which causes the aspiration of saliva into the interior of the chitinous receptacle and its expulsion through the *salivary duct* which is found in the proboscis and is formed, as we have seen before (1), by the application of one mandible to the other.

Physiology.

Given the anatomy and the structure of the different parts of the salivary apparatus of the *Triatoma,* it is easy to understand the functioning of the same.

The saliva is formed only in the principal gland, which is the only one that shows a typic glandular texture; it passes out through the principal duct to the salivary pump, from which it is expelled through the salivary tube found in the proboscis.

As for the supplementary and accessory glands, I believe them to be simple receptacles or deposits for saliva, where the excess of the principal gland is stored.

When the saliva in the principal gland is insufficient for the demands, the reserve accummulated in the other two glands comes into play, running out through the principal gland, thanks to the communication between the principal duct, at its origin, and the accessory one.

---

(1) See: Barreto, A. L. B. Notas entomologicas I. Estudos sobre a anatomia do genero *Triatoma*: Proboscida e tubo digestivo. (Brasil Medico Anno 3. 1919. N. 1. pag. 161.)

Un Cas de Môle Compliqué de Chorio-Carcinome

par le

Dr, Oswino Alvares Penna

(Avec les Planches 13—16).

Section d'Anatomie Pathologique de l'Instituto Oswado Cruz

L'observation que nous présentons ne vient pas précisément ouvrir de nouveaux horizons dans l'étude des chorio-carcinomes; elle nous offre à peine l'heureuse occasion de suivre les diverses phases de l'évolution d'une de ces tumeurs, grâce à l'amabilité de M. le Dr. CAMILLO BICALHO.

Notre confrère qui a fait l'observation clinique en donne le rapport suivant:

« A. F., blanche, portugaise, agée de 27 ans, mariée, de bonne constitution.

Antécédents: héréditaires, bons.

Individuels: Tempérament excessivement nerveux. La malade n'a eu aucune maladie grave: elle se plaint de l'estomac. Des deux enfants qu'elle a eus, le premier, qui a été extrait à forceps, est actuellement agé de cinq ans, tandis que le deuxième, né après accouchement normal, est mort à deux ans et serait aujourd'hui âgé de quatre. Les grossesses ont été pénibles avec des accidents nerveux et surtout des troubles de l'estomac (vomissements incoërcibles). Elle n'a jamais avorté.

Premier éxamen le 15 Janvier 1920. La malade se croit enceinte depuis deux mois: ses règles ont cessé depuis Novembre et depuis ce temps elle souffre de l'estomac. M. le Dr. PAES BARRETO la traite depuis cinq jours parce qu'elle vomite toute ce qu'elle avale même l'eau; elle a eu de petites hémorrhagies utérines sans douleurs. Elle ne supporte aucun médicament dans l'estomac.

L'éxamen local révèle un utérus médian de consistance molle très grand pour deux mois: col normalement mou et fermé. Pas de fièvre: pouls petit (moyenne de 90 a 100 par minute).

Toute médication interne est impossible puisque la malade ne le tolère guère. Les applications de glace sur l'estomac soulagent les vomissements. Injections de huile camphrée et irrigations vaginales. Les hémorrhagies et

vomissements continuent en s'améliorant et en s'aggravant alternativement. Les hémorrhagies sont peu importantes et s'espacent de deux à trois jours. Les injections de sérum hormo-gravidique ne donnent aucun résultat tandis que l'adrénaline, en injections journalières, soulage les vomissements.

Peu à peu les symptômes s'améliorent et il semble que tout rentre dans l'ordre. Le 24 Janvier je suspends mes visites.

Le 13 Février je suis appelé à nouveau parce que tous les symptômes s'étaient renouvelés. La malade déclare que les troubles de l'estomac n'avaient pas cessé, mais que les hémorrhagies n'étaient revenues que ce jour même en coïncidant avec des vomissements rebelles. La malade avait perdu sa bonne mine, était dévenue maigre et se sentait faible. L'utérus s'est augmenté outre mesure de volume et donne l'impression d'une grossesse de six ou sept mois: il est d'une consistance molle et pâteuse, douloureux a l'éxamen. On n'entend pas de bruit cardiaque ni de souffle placentaire; col mou et fermé. Le contact du doigt dans le col utérin provoque des vomissements immédiats en causant du malaise et en aggravant l'état Le pouls varie entre 100 et 120; pas de fièvre. A l'éxamen les urines sont normales.

Quoique sans danger précis, l'état général de la malade, qu'aggravent les vomissements, ainsi que l'évolution anormale de la pseudo-grossesse m'impressionne et je propose une opération pour vider l'utérus, qui est refusée. J'interromps nouvellement mes visites. Le 25 Février de très bonne heure on m'appele. La malade est très amaigrie, anémique et affaiblie. Pouls 140: pas de fièvre. Utérus peut-être encore plus grand que dans une grossesse normale de neuf mois. Je déclare ne plus rien entreprendre sauf l'opération, qui était dévenue urgente et même dangereuse; deux ou trois heures après la malade expulse rapidement une môle hydatiforme de 4 kg. Au sein des hydatides, du coagulum et du liquide, rien ne ressemble à un embryon. La température atteint 37.8°C. pouls de 160. Injections de sérum physiologique etc. État général extrêmement défavorable: le toucher digital démontre qu'il reste encore quelque chose dans l'utérus.

La malade se plaint de douleurs dans le ventre, surtout dans l'ovaire droit, Impressionée par l'aspect des masses expulsées la famille permet le curettage utérin qui est éffectué le matin du 26, l'état général étant toujours défavorable. Après le curettage instrumental, en examinant le ventre on perçoit l'utérus petit et rond au dessus du pubis et on observe nettement trois autres tumeurs indépendantes entre elles et indépendantes de l'utérus. Toutes les trois sont assez douloureuses; l'une, de la grandeur d'une mandarine, dans l'ovaire droit; une autre, un peu plus grande et un peu moins douloureuse, dans l'ovaire gauche: et une troisième, trois fois plus volumineuse que celle-ci, mobile, bien définie plus ou moins lisse, allongée dans le sens longitidunal du corps, comme si elle reposait sur l'aorte un peu à gauche de la ligne médiane et un peu au-dessus de l'ombilic, tres douloureuse.

Des observations journalières de la maison de santé, j'extrais les données suivantes:

Le 26—L'état de la malade est toujours défavorable: pouls 120, vomissements fréquents—défaillances.

Le 27—État toujours défavorable—Médication le matin: lavage et drenage utérins (gaze iodoformée) après la médication l'état de la malade s'aggrave, surtout en ce qui se rapporte aux vomissements—l'après—midi j'ai retiré la gaze de l'utérus ce qui la soulagea un peu.

Le 28—État toujours défavorable, injections d'adrénaline, caféine, huile camphrée et sérum; on continue les applications de glace sur l'estomac; lavage

utérin, sans drenage (après la médication, aggravation passagère de l'état de la malade).

Le 29—Aucun changement dans l'état de la malade—Injections de lantol le matin et l'après—midi, avec de bons résultats (V. le Tableau de la Température)—les vomissements tendent a s'améliorer—lavage vaginal simple—légerement sanguinolent.

Le 1 Avril—Les progrès s'accentuent—déjà peu de vomissements.

Pendant quelques jours on continua les lavages vaginaux simples, les injections de lantol, et de huile camphrée.

Le 6 Avril la malade quitte la maison de santé. Elle a perdu environ les deux cinquièmes de son poids et ne peut se tenir debout. Anémie notable. Elle se nourrit passablement. La température est normale; pouls 90 et 100. Le ventre est flaccide, avec deux tumeurs seulement puisque celle de l'ovaire droit est disparue. Les deux restants semblent aggrandies quoique moins douloureuses.

Chez elle la malade est confiée aux soins de son mèdecin afin de récupérer ses forces de façon à pouvoir supporter l'opération, qui me parait indispensable: histérectomie et (si possible) extirpation des deux tumeurs dont je ne puis préciser la nature mais qui me paraissent être des métastases du chorioépithéliome utérin.

Le 11 Mai nouvel éxamen de la malade: son état général est assez satisfaisant: elle se nourrit bien et continue à augmenter de poids en regagnant sa bonne mine. Elle a eu des règles avec peu de sang et de faibles douleurs.

Le toucher vaginal révèle un utérus presque indolore de grandeur et consistance normales. L'éxamen du ventre ne permet d'observer de tumeur d'aucune sorte (!). La région des ovaires est parfaitement flaccide et indolore. A l'emplacement de la plus grande tumeur un empâtement douteux avec une légère sensibilité que je ne sais si on pourrait attribuer à la tumeur.

Ces tumeurs tellement nettes qu'elles avaient été perçues par l'infirmière sans que je les fui eusse montrés ont été constatées par MM. les Drs. CARLOS WERNECK et PAES BARRETO aussi et je les avais sentis encore un mois après sa sortie de la Maison de Santé.

La malade ne veut rien savoir d'une opération.

Le 25 Septembre je suis appelé de nouveau. La malade a presque regagné son poids normal est sa bonne mine. Elle s'était très bien portée jusqu'à deux mois auparavant. Les règles qui auraient du avoir lieu le 20 Juillet firent défaut. Elle se croit grosse depuis ce temps d'autant plus que depuis lors elle a souffert de l'estomac. Depuis le jour précédent les vomissements répétés ont repris et elle a eu de petites pertes sanguinolentes. L'éxamen révèle un utérus non douloureux, gros pour deux mois de grossesse; le col est mou et fermé. Le toucher digital provoque des nausées. Pouls de 100; pas de fièvre.

Je déclarai n'entreprendre le traitement de la malade qu'à condition de pouvoir l'opérer dans deux ou trois jours.

Le 26, de très bonne heure, la malade éprouve une abondante hémorrhagie. Je la trouve couchée au milieu de très grandes masses de sang coagulé, exsangue presque, et avec un pouls imperceptible et des collapses répétées. Je fais un fort tamponnement vaginal, des injections cardio-toniques, ergotine et sérum gélatiné en abondance, tandis que je la fais mener à la Maison de Santé.

Ce même matin elle est opérée sous anésthésie par l'éther; hystérectomie totale avec ablation des annexes droits. Dans l'ovaire de ce même coté il y a un petit abcès avec environs 5 cm^3. de pus jaune clair. Suture du vagin, sans drenage.

Le ventre ouvert, je recherchai en vain les anciennes tumeurs que j'avais senties. A l'exception du petit abcès de

l'ovaire gauche (que l'examen n'avait pas permis de déceler) rien de suspecte ne fut constaté. Ces nodules ne pourraient-ils être des fécalômes, étant donnée leur grande sensibilité et leur persistance après plus d'un purgatif que la malade avait pris. Métastase régressive?

Les suites de l'opération ont été excéllentes: le huitième jour on a ôté les agrafes. Pas d'élévation de température; le pouls s'est remis peu à peu et à ce moment est d'environ 90 par minute.

Le neuvième jour la malade se plaint de points de coté dans la moitié gauche du thorax et l'après-midi elle éprouve une petite élévation de température. Le dixième jour le point de coté subsiste et la température atteint 38°: le crachat est légèrement hémoptoïque. Son mèdecin, ayant été appelé, constate un foyer congestif du poumon et entreprend le traitement nécéssaire (médication interne, ventouses, injections de huile camphrée et de lantol). Peu à peu la crainte bien fondée d'une métastase pulmonaire semble pouvoir être mise hors de cause par l'évolution de ce foyer congestif vers une pneumonie franche, à moins que le métastase ne se prêtât a cette confusion et regressât très rapidement.

Cette complication intercurrente évolue sans une plus grande gravité et à la 20 ème journée de son séjour la malade quitte la Maison de Santé guérie.

Depuis ce temps, ses progrès sont rapides. Elle parait guérie de son ancienne dyspepsie, s'alimente bien et reprend son poids et sa teinte normale. Le ventre est complètement insensible et la cicatrice vaginale est bonne ainsi que celle de la peau du ventre.

Rio, le 30 Octobre 1920.

Le lendemain de l'éxpulsion de la môle nous sommes allés la chercher chez la malade et nous l'avons trouvée dans un bassin, dans de l'eau courante. Le matériel se composait de vésicules de dimensions variant entre celles d'un gros raisin, et celles de vésicules microscopiques; les unes étaient tenses les autres fanées, quelques unes déchirées, et on voyait des masses de sang coagulé, d'un rouge clair, décolorées naturellement par l'eau qui était fortement teinte en rouge. Le tout pesait environ 4 kg. Nous avons cherché avec ténacité et un grand désir de le trouver, l'embryon, mais en vain: nous n'en avons rencontré pas même des vestiges. Les hydatides étaient d'une couleur brune claire.

La Fig. 1 est une photographie de l'exemplaire conservé dans le liquide de JORES au Musée de l'Instituto Oswaldo Cruz sous la rubrique P. C. 1144.

Nous avons pris beaucoup de ces hydatides, surtout les plus petites pour les faire inclure en paraffine et les faire couper et colorer a l'hématoxyline-éosine. A l'éxamen de ces préparations nous avons constaté que les noyaux des cellules de LANGHANS et des syncytiums n'avaient pas pris d'une manière particulière et élective le colorant basique du mélange, ce que nous pensons attribuer à la longue macération en eau courante qui précéda la fixation.

Avec des légeres variantes les coupes des hydatides examinées montraient la même structure; dans la portion centrale un tissu fibro-muqueux très lâche, qui par endroits paraissait même édémacié, telle était la distension des mailles. Autour de cette formation, une espèce de membrane vitrée, constituée par le tissu fibreux; les fibres conjonctives des mailles paraissaient s'être condensées pour former une capsule de soutien. Disposées verticalement sur cette membrane vitrée, des cellules épithéliales hautes, et sur cette couche cellulaire des masses protoplasmiques à dimensions variables, très écartées les unes des autres et ayant beaucoup de noyaux; les premières étaient des cellules de LANGHANS et les secondes des masses syncytiales. L'étude

de ces cellules n'a pas pu être faite avec détails parce que la structure histologique en avait été altérée par la macération.

Cet aspect est l'indispensable pour permettre de faire un diagnostic de môle, et pour savoir pourquoi, voyons d'abord ce qu'est histologiquement une môle.

La môle est un blastome bénin, structuralement mixte, résultant de l'hyperplasie typique des villosités du chorion, sans néo-formation des vaisseaux ombilicaux. Normalement la villosité est constituée de tissu fibro-muqueux, ayant à la partie centrale un rameau de l'artère ombilicale; ce tissu muqueux est circonscrit par une mince couche de tissu fibreux condensé, d'où partent vers l'intérieur de la villosité des fibres isolées ou réunies. Ces fibres forment des travées qui s'entrecroisent en divers sens pour constituer les mailles qui contiennent le tissu muqueux de la villosité, en tout semblable à la gélatine de WHARTON du cordon. Vers l'éxtérieur s'ajustent sur ce tissu conjonctif condensé, qui consitue pour la villosité une véritable capsule, des cellules épithéliales pour la plupart de forme polyédrique ou cylindrique, entassées les unes sur les autres et adaptées verticalement à la membrane conjonctive comme si celle-ci était une membrane vitrée. Ces cellules sont les cellules de LANGHANS. Sur ces cellules se trouvent des masses protoplasmiques non contiguës et séparées par des espaces plus ou moins grands de façon à ne pas former une couche continue autour de la villosité. Ces masses protoplasmiques présentent toujours des nombreux noyaux et sont dénominés des syncytiums par les auteurs allemands et des plasmodes par DUVAL. Eh bien, la môle est l'hyperplasie totale de cet ensemble, toutefois avec une hyperplasie relative des cellules épithéliales de la villosité: c'est ainsi qu'augmentent les cellules de LANGHANS et les syncytiums.

Par où une villosité choriale diffère-t-elle d'une hydatide de môle? Les données suivantes nous l'indiquent:

1°) En général toute villosité montre une coupe d'artériole, une autre d'une veinule, des petits rameaux de l'artère et de la veine ombilicales: l'hydatide, au contraire, ne montre généralement pas de coupe de vaisseaux.

2°) Dans l'hydatide, il y a toujours une hyperplasie limitée et ordonnée des cellules de LANGHANS et des syncytiums.

Dans notre cas, ce fut le manque de vaisseaux dans les coupes des diverses hydatides qui nous permit le diagnostic histologique de môle comme on le peut vérifier dans la microphotographie des coupes de quelques hydatides focalisées sous petit grossissement et reproduits dans notre Fig. 2.

Il est aujourd'hui parfaitement établi que la môle est une tumeur, puisqu'elle résulte de l'hyperplasie autonome de certaines cellules déterminées de l'organisme. VIRCHOW l'appela «myxoma chorii», tandis que LANGHANS le contesta démontrant que l'on ne peut caractériser le tissu muqueux ni au point de vue histologique ni par ses réactions microchimiques.

LANGHANS, ORTH et FRANQUE' soutenaient l'opinion qu'il s'agit d'un état œdémateux des villosités du chorion. MARCHAND et FRAENKEL, concordent que dans la môle les altérations de l'épithélium de la villosité et la prolifération irréguliere, surtout de la couche cellulaire de LANGHANS ont la plus grande importance.

DURANTE considère la môle comme un adénome villeux. Dernièrement WERTH (Die extrauterinische Schwangerschaft Handb. der Geburt 1904) revient à parler de la dégénération hydropique, à propos du diagnostic de môle extra-utérine dans le cas de grossesse tubaire. Dans ces cas on constate fréquemment la formation de môles et il

l'apelle dégénération hydropique avec macération de l'épithélium chorial. Or la dégénération hydropique ou hydropsie des villosités survient quand celles-ci se détachent de leur pédoncule ou quand il y a un obstacle à la circulation veineuse ombilicale, comme dans l'avortement, par exemple, et ne peut pas être confondue avec la môle, comme l'a démontré WILLIAM MEYER de la Carnegie Institution de Washington.

La môle est une tumeur bénigne puisque l'hyperplasie qui l'occasionne reproduit toujours typiquement la même structure histologique, déjà existante dans l'organisme, la villosité. En plus, elle n'a pas de tendance à envahir les tissus voisins et ne produit pas de métastase à distances. C'est en vue de ce fait que nous avons étés menés par la déscription de métastase dans l'histoire clinique dans le cas présent à penser à une môle suivie de chorio-carcinome.

La môle est une tumeur de stucture mixte, puisqu'elle se forme au dépens de l'hyperplasie simultanée du tissu muqueux et du tissu épithélial; mais ce n'est pas une tumeur mixte tératoïde puisque la môle n'est pas congénitale, devant être comprise dans la classe des *tumeurs mixtes conjonctivo-épithéliales* de ASCHOFF et BORST.

Au point de vue de la structure histologique la môle mérite la dénomination de chorio-myxo-adénome. Chorio indique la localisation, myxome traduit l'hyperplasie du tissu muqueux et adénome montre que les cellules de LANGHANS et les syncytiums sont affectés.

Les cellules de LANGHANS et les syncytiums doivent être considérés comme des cellules épithéliales hautes, surtout les cellules de LANGHANS qui sont parfois même cylindriques. C'est aussi à travers ces cellules que s'éffectuent les échanges nutritifs entre le sang maternel et celui du foetus. La couche formée de ces deux sortes de cellules n'a pas simplesment une fonction dialysatrice mais elle a une fonction de sécrétion et excrétion, qui fait sélection entre les éléments de nutrition du sang maternel utiles a l'embryon; elles jouent donc le rôle de cellules glandulaires et c'est pour cela que nous considérons la tumeur en question comme un adénôme. En vue de leur origine éctodermique ces cellules ont été considérées comme des cellules épithéliales plâtes, d'où la dénomination de chorio-épithéliôme. Mais aujourd'hui c'est un fait accepté que l'éctoderme peut former des cellules épithéliales hautes même cylindriques, ce qui a fait fracasser la classification des épithéliomes en fonction de leur origine blastodermique.

Mais si nous considérons ces cellules épithéliales comme des cellules glandulaires, nous devrons peut-être regarder la villosité comme un acinus glandulaire inverti dans lequel au lieu d'être tournées vers la lumière glandulaire, les cellules épithéliales se seraient rangées du coté éxtérieur de la vitrée. Dans ce cas la môle serait simplement un adénôme et non pas une tumeur conjonctivo-épithéliale; et on ne prendrait pas en considération le tissu conjonctif de la môle comme on ne considère pas le tissu conjonctif des vitrées des acinus glandulaires qui est une néo-formation de l'adénôme, comme partie intégrante de la tumeur. En effet, il est connu que le tissu conjonctif qui forme le squelette, ou soutien des tumeurs épithéliales ne jouit pas des mêmes propriétés que les cellules épithéliales, qui sont des éléments formatifs de ces tumeurs. Ceci a été expérimentalement prouvé dans les cas des tumeurs greffés. Quand on greffe seulement des cellules épithéliales de la tumeur d'un animal chez un autre animal on obtient un néoplasme dans le deuxième formé aux depens des cellules épithéliales du premier; mais le tissu qui soutient les cellules épithéliales se forme aux dépens du deuxième sujet. D'un autre côté quand on retire, par un procès spécial, les

cellules épithéliales d'une tumeur greffable, et ne fait la greffe que du tissu conjonctif la tumeur ne se reproduit pas.

En tenant compte de ces faits, il paraitrait à premier abord que la môle doit être considérée comme un adénôme simple; mais il ne faut pas perdre de vue que l'hydatide n'est pas un acinus glandulaire et que le tissu conjonctif de la môle est formé d'une grande quantité de tissu muqueux hyperplasié qui ne joue pas le rôle de soutien des cellules épithéliales, tandis que dans l'acinus glandulaire néo-formé de l'adénôme le tissu conjonctif est représenté seulement par du tissu fibreux dont le seul rôle est de servir de squelette aux cellules épithéliales.

Dans notre cas ni le Dr. CAMILLO BICALHO ni moi n'avons trouvé aucune trace d'embryon. Il parait, cependant que ceci soit la règle dans la môle avec grossesses de deux mois et c'est pourqui on la dénomine «*môle stérile*». Je n'oserai pas proposer la dénomination longue de chorio-myxo-adénome pour substituer celle de môle, celle-ci ne pouvant pas être mise de côté. Le môt môle correspond pour le public en général a un aspect macroscopique, anatomo-pathologique très caractéristique et il serait absurde de vouloir la substituer par un autre nom qui correspond aux caractères microscopiques connus de relativement peu de gens. Ceci ne s'applique cependant pas au cas de la dénomination chorio-épithéliome.

Le môt môle dérive de *μύλη, ης* qui signifie faux germe, et, en effet, au point de vue clinique la môle simule la grossesse. Au point de vue macroscopique cette définion est complétée par le qualificatif hydatiforme. Le nom chorio.-myxo-adénome viendrait tout au plus définir la môle.

Quelque temps après l'étude de la môle en question nous avons reçu de M. le Dr. CAMILLO BICALHO la pièce anatomique obtenue par l'hystérectomie totale et ovariotomie pratiquées chez cette malade.

A l'éxamen macroscopique la pièce se composait de l'utérus entier, corps et col, l'ovaire et de la trompe gauches. L'ovaire augmenté de volume, déchiré à une de ses faces présente une cavité de trois centimètres au plus grand diamètre, avec paroi épaisse de 0,5cm. La surface extérieure est lisse et brillante, la surface interne rugueuse, rouge sombre et contient des restes d'un liquide épais, sombre et sanguinolent. Contre une des parois de la cavité, on voit une masse jaunâtre bien délimitée, constituant, probablement la cicatrice du corps jaune.

La trompe ne parait pas altérée.

La portion utérine de la pièce mesure 11×10×9 cm. Quand elle est arrivée au laboratoire, peu après l'opération elle était déja ouverte dans la partie antéro-médiane. La paroi de l'utérus épaisse de 3 cm près du fond et de 2 cm au voisinage du col.

La cavité utérine dilatée, largement ouverte par l'incision est totalement occupée par une masse à deux aspects macroscopiques tres différents et de volume presque égal. La portion plus grande, plus voisine du fond de l'utérus est formée de grappes hydatiques très petites d'un jaune pâle et de la grandeur moyenne d'un grain de maïs, entre lesquelles se trouvent des petits caillots rouges. La portion plus petite du contenu utérin située près du col est composée d'un grand caillot rouge, plus ou moins rond, régulier, limité à la face externe et fortement adhérent à la paroi postérieure de l'utérus. A l'intérieur du caillot on rencontré des petites hydatides éparses. Le contenu, mesure au total, 8×5×3 cm.

L'examen du myomètre à l'incision de la paroi montre qu'il est blanchâtre et très dur au toucher. De loin en loin des coupes de vaisseaux.

Un examen attentif montre des brides plus ou moins épaisses, s'irradiant

de la cavité utérine vers le périmètre, mais se perdant dans les tissus du myomètre avant de l'atteindre. L'endomètre n'a pas été examiné en détail afin de ne pas nuire a la conservation de la pièce anatomique, d'autant plus que cette étude n'offrait aucun avantage pour l'étude. La pièce se trouve au Musée de l'Institut, étant reproduite dans la Fig. 3 vue de face et dans la Fig. 4 vue de côté. Dans la Fig. 4 on voit les points d'où ont été retirés des fragments pour l'étude histologique. Le périmètre lisse ne montre aucune altération macroscopique.

Ce fut par les coupes histologiques que nous sommes arrivés au diagnostic de chorio-carcinome. Quels furent les éléments qui nous menèrent a ce résultat? L'éxamen de préparations aux faibles grossissements montre des sérieuses altérations de la structure du myomètre et des hémorrhagies en pleine musculature. La principale altération est la séparation des fibres lisses du muscle utérin par des cellules entièrement étrangères à son histologie normale, des cellules épithéliales de forme très variable, tantôt polyédriques, tantôt cylindriques, quelquefois vacuolées. Comme on le verra dans la figure 5, quelques unes ont un protoplasme abondant qui se colore intensement par l'éosine, d'autres un protoplasme plus réduit et décoloré. Ces cellules se caractérisent principalement par pléomorphisme accentué de leur protoplasme et noyau. Elles s'introduisent entre les fibres lisses et les séparent fortement en provoquant des perturbations nutritives au point de les mener à une dégénération hyaline, comme le montre la Fig. 6d. Ces cellules adhèrent aussi aux vaisseaux et sinus veineux du myomètre, traversent la paroi de l'endomètre et déterminent des hémorrhagies qui innondent de sang de larges zones du myomètre; les cellules tumorales bouchent la lumière des sinus veineux. On costate des formation caryokynétiques en beaucoup de points; à fort grossissement, l'éxamen minutieux permet le diagnostic de karyokynèse multipolaire plus restreinte. Ces formations sont dues à l'hyperplasie atypique des cellules de LANGHANS.

La Fig. 5, microphotographie d'une préparation sous faible grossissement montre dans une zone du myomètre *(a)* de nombreuses cellules de LANGHANS avec leur pléomorphisme spécial, rencontré dans ce genre de tumeurs.

Dans la Fig. 7, dessin d'une zone restreinte d'une coupe colorée à l'hématoxyline-éosine on voit de nombreux aspects de tumeur: *a)* cellules de LANGHANS; *b)* syncytiums: *c)* fibres musculaires lisses séparées par des cellules de LANGHANS; *d)* fibres musculaires lisses en dégénération hyaline.

L'éxamen attentif montre entre les fibres du myomètre de rares syncytiums et ceci semble bizarre, c'est pourtant un fait qui peut-être expliqué, à notre point de vue, par la malignité de la tumeur.

Il faut noter qui ces cellules se disséminent, s'introduisent dans et envahissent le myomètre, et s'approximent beaucoup du périmètre; cependant dans nos coupes, nous n'a avons vu aucune cellule tumorale dans cette portion de la paroi utérine.

Cette description, se rapporte exclusivement aux coupes des parois utérines proprement dites. Il faut rappeler que dans la deuxième pièce de la malade reçue de M. le Dr. CAMILLO BICALHO, l'utérus contenait des hydatides petites, dont quelques unes si adhérentes à la paroi utérines, qu'elles furent comprises dans les coupes de celle-ci. L'éxamen microscopique de ces hydatides montre que leur stroma fibro-musculaire est tout semblable à celui de la môle, à l'exception des éléments épithéliaux. En effet, il y a eu une hyperplasie atypique, désordonnée des cellules de LANGHANS et des syncytiums, principalement des

premières, qui forment des groupes très semblables à ceux décrits dans les parois utérines. Ces grumeaux, ou amas de cellules, se détachent de la surface d'une hydatide et s'introduisent d'une façon désordonnée entre les autres hydatides. Cet aspect est bien réprésenté dans les Figs. 7 et 8 de l'hydatide a faible grossissement: l'hyperplasie des syncytiums en *a* et des cellules de LANGHANS en *b)*. Ainsi décrit et diagnostique notre cas particulier, revenons à la définition plus exacte du chorio-carcinome.

Le chorio-carcinome est un blastome déterminé par l'hyperplasie atypique des cellules épithéliales des villosités choriales, qui se développe dans l'organisme maternel.

A cette définition, nous ajoutons «*qui se développe dans l'organisme maternel*» afin d'écarter à dessein les formations dérivées des villosités choriales chez l'homme. Nous n'en parlerons pas puisqu'elles sont congénitales, devant pourtant être rangées entre les tératomes. En s'occupant de la structure histologique des tumeurs, il faut savoir lequel des éléments épithéliaux prédomine dans la formation des rio-carcinômes, les cellules de LANGHANS ou les syncytiums. Dans notre cas les cellules de LANGHANS l'emportaient de beaucoup sur les syncytiums. Et c'est d'alleurs ce qu'on trouve dans les autres cas décrits, avec de legères variations, qui n'affectent pas la grande supériorité numérique des cellules de LANGHANS. D'un autre côté il est connu que même au cours d'une gestation normale, les syncytiums peuvent abandoner la surface de la villosité et pénétrer dans la muqueuse, allant même jusqu'à la paroi utérine; quand ces masses cellulaires envahissent en grand nombre la muqueuse, elles produisent la soi-disante métrite syncytiale, mais cette migration des syncytiums n'occasionne nullement des tumeurs, ni dans l'un ni dans l'autre cas.

Les amas cellulaires peuvent atteindre les poumons et le foie. Dernièrement SCHMORL a même voulu expliquer l'éclampsie comme syndrôme toxique déterminée par la présence des syncytiums dans le foie. On rencontre ces cellules en effet dans les autopsies de cas d'éclampsie sans qu'on puisse pourtant établir avec assurance une relation de cause et d'effet entre les syncytiums et ce syndrome.

Au contraire de ce qu'on constate avec les syncytiums dans la plupart des cas, il y a toujours formation de tumeurs quand les cellules de LANGHANS abandonnent les villosités pour envahir le parenchyme.

Le chorio-carcinôme n'est pas toujours précédé de môle; à ce sujet la meilleure statistique est celle de BRIQUEL publiée dans Surgery, Gynecology and Obstetrics: de 112 cas étudiés par ce gynécologiste 21 suivirent des naissances à terme (18,4 %), 34 furent consécutifs à des avortements (30,3 %), 54 à une môle (48,1 %) et trois furent précédés de grossesse tubaire (2,6 %).

On est même arrivé à confondre, dernièrement, le chorio-carcinome avec la môle hydatiforme. Cette confusion n'est pas justifiée, puisque ce sont deux tumeurs de structure différentes. Le chorio-carcinome est très souvent précédé de môle; cette dernière peut donner lieu au chorio-carcinome., mais ce n'est pas un motif pour les confondre. Très souvent chez la femme, des fibro-adénomes de la mamelle donnent lieu à la formation d'un carcinome et cependant ce sont deux tumeurs différentes par leur anatomie microscopique, leur structure et leur évolution, quoique les cellules qui les constituent soient identiques. Eh bien, entre le chorio-carcinome et la môle il y a la même différence et en plus, une constitution histologique diverse, puisque le chorio-carcinome est formé à peine de cellules épithéliales

et la môle résulte de l'hyperplasie de l'épithélium et du tissu conjonctif.

D'ailleurs nous avons déjà vu qu'on peut trouver une môle sans chorio-épithéliôme et vice-versa.

Voyons en résumé quelles sont les différences entre la môle et les chorio-carcinomes:

La môle:

1°. Est une tumeur structuralement mixte composée de tissu épithélial et de tissu conjonctif.

2° Elle est une tumeur bénigne, qui ne produit que rarement des métastases.

Le chorio-carcinome:

1°. Est une tumeur éxclusivement épithéliale.

2°. Est une tumeur maligne qui se complique généralement de métastases graves.

Dans la tumeur môle, la villosité choriale donne naissance par hyperplasie typique, régulière, à de nombreuses hydatides, tout à fait semblables à la villosité, tandis que dans la tumeur chorio-carcinome seules les couches cellulaires épithéliales abandonnent leur place et présentent une hyperplasie atypique désordonnée, envahissant les vaisseaux et le parenchyme et ne produisant pas de villosités.

On a prétendu que ce n'était pas possible de faire le diagnostic microscopique différentiel entre la môle, le chorio-carcinome et le chorion normal, Cependant suivant WILLIAM MEYER il est presque toujours possible de le faire entre la vésicule choriale et l'hydatide de môle.

En étudiant une métastase vaginale de chorio-épithéliome, PICK et SCHLAGENHAUFER sont arrivés a la conclusion qu'il y a deux modalités de ces tumeurs et GRAVES dans son livre «Gynecology» écrit à ce sujet: «When the fact became known that the disease might be either benign or malignant, every effort was made by pathologists to discover some distinguishing histological mark by which the two forms might be differentiated. These efforts have been unsuccessful. MARCHAND, ASCHOFF, KISSEL and VON FRANQUE' ALBRECHT, HORTMANN, and others agree that we have absolutely no histologic criterium for determining the malignancy of these tumours».

Malgré l'opinion de ces grandes autorités, nous nous permettons d'objecter notre répugnance à la division des chorio-épithéliomes en bénins et malins. L'épithéliome «bénin» cause un véritable désordre dans les notions que les histologistes modernes ont cherché a systématiser avec tant de soin, en se basant sur des faits acquis.

Voyons ce qu'on peut comprendre par chorio-carcinome bénin et malin. Admettre qu'une tumeur diagnostiquée histologiquement comme un chorio-carcinôme, comme nous l'avons fait et défini antérieurement, peut avoir deux modalités, une bénigne et l'autre maligne semble bien risqué pour le malade et en entier désaccord avec ce qu'on connait aujourd'hui au sujet du carcinôme. Aussi l'épithéliome et le carcinome sont toujours des tumeurs malignes. Nous sommes donc d'avis, que lorsqu'on dit dans la plus part des livres modernes que c'est impossible de faire un diagnostic histologique entre le chorio-épithéliôme bénin et malin, que les auteurs veulent signaler la difficulté ou même l'impossibilité de savoir par l'éxamen histologique des hydatides, si la môle sera compliquée de chorio-carcinôme. Il s'agit alors d'un confusion entre môle et chorio-carcinôme que nous avons déjà essayé de faire disparaître. Quant à la difficulté de ce diagnostic nous sommes complètement d'accord avec les auteurs.

On lit encore fréquemment que, dans les cas spéciaux d'avortement ou môle ou le matériel de râclure utérine est remis par le praticien a l'anatomo-pathologiste pour savoir s'ily a une possi-

bilité de complications par chorio-carcinôme, celui-ci ne peut donner une opinion decisive, d'où la conclusion de l'identité histologique de môle, chorio-épithéliome et chorion normal, par absence de diagnostic différentiel.

La première partie de cette affirmation est vraie. Sauf en des cas très spéciaux, on ne peut faire le diagnostic entre la môle, le chorion normal et le chorio-épithéliôme, avec le matériel de râclure de l'utérus. Ceci n'est cependant pas dù a l'identité des tissus, mais a l'insuffisance du matériel cueuilli par ce procès ou à des altérations de structure. On ne peut pas étudier la structure, l'organisation, l'architecture cellulaire, les rapports des cellules entre elles, indispensables pour savoir en chaque cas si ces cellules constituent une des trois formation citées. Ce qu'on peut reconnaitre avec sureté dans le matériel cueuilli par ce procédé sont les cellules des LANGHANS: mais celles-ci sont trouvées indifféramment dans la môle, le chorion normal et le chorio-épithéliôme. Pour distinguer dans un cas particulier si elles constituent une de ces formations, il faut donc éxaminer les rapports qu'elles gardent entre elles et avec le tissus voisins. C'est précisément cet élément que le matériel râclé ne peut pas fournir à l'anatomo-pathologiste. La plupart des cellules de LANGHANS d'un chorio-carcinôme sont tout-à-fait identiques aux cellules de LANGHANS de la môle ou du chorion normal, de même façon que la plupart des cellules d'un adéno-carcinome sont identiques aux cellules épithéliales d'un adénome ou à celles des glandes aux dépens desquelles se forment ces deux genres de tumeurs.

Ces faits, loin de soustraire la môle ou le chorio-carcinome aux règles générales aujourd'hui acceptées dans la classification des tumeurs, montrent au contraire qu'elles obéissent à ces règles.

Actuellement on cherche de moins en moins à faire le diagnostic différentiel des tumeurs par la cellule tumorale, c.-à-d. par l'unité histologique de la formation, et l'on cherche de plus en plus à établir les lois qui régissent les rapports des cellules entre elles dans les tumeurs et dans les tissus normaux. Dans la plupart des cas la cellule tumorale est identique à la cellule normale.

Ce qui arrive avec les tumeurs placentaires est ce qui arrive avec les autres tumeurs. En effet, si on envoie à l'anatomo-pathologiste un acinus glandulaire ou quelques cellules d'une formation pour qu'il émette son opinion afin de savoir si c'est une tumeur, il demandera qu'on lui envoie plus de matériel pour étudier les relations entre les cellules et les acinus entre eux et avec les tissus voisins. C'est ce qui arrive dans les tumeurs en question. Si au lieu d'envoyer du matériel de râclure on envoie un bon fragment de tissu obtenu par biopsie de l'utérus, l'anatomo-pathologiste pourra dire avec sureté s'il s'agit de môle, de chorio-carcinôme ou de chorion normal.

Ceci exposé, nous voulons montrer, d'accord avec les données anatomo-pathologiques et cliniques, comment doit procéder le gynécologiste pour avoir une plus grande probabilités d'atteindre au but, en présence d'un cas de môle hydatiforme. Voyons les deux aspects les plus communs sous lesquels se présentent les cas:

Une femme, qui se croit enceinte a des hémorrhagies assez abondantes et fréquentes ou bien le médecin lui administre des médicaments et pendant ce temps elle expulse spontanément une môle, ou alors il se décide à vider l'utérus et il trouve la môle.

Il nous parait que la première chose à faire est de savoir l'âge de la malade;

si elle est âgée d'environ 44 ans ou davantage et si elle ne s'oppose pas à l'extirpation de l'utérus, ce que le mèdecin peut faire de mieux c'est de lui proposer l'extirpation totale de cet organe. Quand la malade montre des symptômes de métastases, avant de chercher à connaitre son âge, il convient de faire, l'hystérectomie de suite sans chercher a savoir s'il y a chorio-épithéliome bénin ou malin et si la môle produit ou non des métastases, considérations qui pourraient être périlleuses pour la vie de la malade.

Cependant si l'on ne constate pas de métastases, ni de symptômes généraux graves (albuminurie, anémie profonde, vomissements etc.) ni d'hémorrhagies abondantes et si la malade est agée de 18—40 ans, il est déjà plus malaisé de choisir la thérapeutique la plus avantajeuse, d'autant plus que dans la Kiel-Klinik de 20 cas de môle deux seulement se compliquèrent de chorio-carcinome. KEHRER accompagna l'histoire de 50 cas et aucun ne s'est compliqué de chorio-carcinome; SENARCLENS, cité par POLDOSSON et VIOLET, observa 42 cas de môle dont 3 seulement furent suivis de chorio-carcinome, etc.

On voit qu'il est possible de conserver l'utérus entier après la môle et les observations de môle suivie de naissances normales, à terme sont communes. Dans ces cas on doit remettre a l'anatomo-pathologiste le matériel extirpé ou expulsé spontanément. Quand le chirurgien fait le curettage on doit chercher a examiner, de preférence histologiquement, les tissus détachés de la paroi utérine. Si dans le matériel râclé on obtient un fragment qui correspondrait a celui obtenu par une biopsie, le diagnostic devient naturellement plus facile; mais ceci doit arriver bien rarement, parce qu'en général, le chirurgien en connaissance de cause ménage l'utérus qui présente une môle. Mais, même dans les hydatides, surtout les plus petites, il faut étudier soigneusement les couches de cellules épithéliales et si l'anatomo-pathologiste trouve les syncytiums et surtout les cellules de LANGHANS exagérément hyperplasiés autour d'une villosité, quelquefois abondonnant la villosité pour former des ilôts épars de cellules épithéliales sans que celles-ci gardent leurs rapports normaux (quelque chose de semblable a ce qu'on voit dans la Fig. 8), nous croyons qu'il a le droit, sinon de faire le diagnostic de chorio-carcinome, au moins de conseiller la pan-hystérectomie.

Ainsi le mèdecin accoucheur ne peut attendre du laboratoire, sinon deux réponses:

1) Qu'on fasse l'hystérectomie, 2) on ne peut savoir par l'éxamen du matériel, s'il y a ou non des probabilités de complication de la môle par chorio-carcinôme. Malheureusement, la dernière réponse est la plus fréquente et le chirurgien ne peut s'appuyer que sur les symptômes cliniques.

Pour résoudre ce dernier cas, du reste le plus commun, nous transcrivons ici le critérium, adopté par VINEBERG, exposé dans son article «Clinical Data on Chorio-epithelioma with end-results of operative treatment». Dans ce travail il étudie 8 cas de môle suivis de chorio-carcinôme et le matériel anatomo-pathologique est très bien décrit par MANDLEBAUM, anatomo-pathologiste du Mt. Sinai-Hospital.

VINEBERG conseille, à faire une colpotomie, suivie d'hystérectomie antérieure; De cette façon on retire toute la môle de la cavité utérine et en même temps on examine la cavité pour vérifier s'il y a quelque signe de chorio-carcinôme. Voyons la description résumée d'un de ses cas pour que les chirurgiens puissent mieux juger du procès.

«Une malade, âgée de 26 ans, avait avorté six semaines avant l'examen; au moment de l'avortement elle avait

été curettée. Quelques jours après elle avait continué à avoir des hemorrhagies de façon qu'on fit un nouveau curettage, en envoyant à l'examen le matériel obtenu. L'anatomo-pathologiste répondit qu'il s'agissait d'un cas suspect de chorio-épithéliôme, sans l'affirmer, puisque dans le matériel éxaminé il n'y avait pas de myomètre. Cependant la malade continuait a saigner de façon qu'elle consulta VINEBERG. En vue de son âge, le cirurgien pratiqua l'hystérotomie et vida l'utérus; comme il ne constata pas de signe macroscopique de chorio-épithéliôme il sutura la plaie. La malade, observée trois mois plus tard, était en très bon état de santé et avait eu ses règles normalement.»

HITSCHMANN et CRISTOFOLETTI concordent avec le procédé de VINEBERG, en préferant cependant la voie abdominale pour l'hystérotomie, pour des motifs qu'il ne nous importe pas de rapporter ici.

Si le procédé de VINEBERG est acceptable et nous ne voulons pas éxprimer une opinion à ce sujet, ne pourrait-on, demandons-nous, au moment de l'hystérotomie, faire une biopsie de la paroi utérine? L'anatomo-pathologiste aurait-alors du matériel dans de meilleures conditions pour répondre avec assurance s'il s'agit de chorio-carcinôme.

Cependant, VINEBERG n'a pas toujours recours à l'hystérotomie pour le traitement de la môle. Dans les huit derniers cas de môle décrits dans l'article cité il fit systématiquement le râclage utérin et si la malade saignait encore après cette intervention il pretiquait alors l'hystérectomie. Dans tous les cas il y avait un intervalle de temps entre les deux interventions, pendant lesquels les malades se portaient bien; mais toutes ont eu des nouvelles hémorrhagies et il a fallu pratiquer la pan-hystérectomie. Toutes ces malades ont été guéries. Il semble que puisque le râclage ne guérit aucune de ses malades, VINEBERG devrait maintenant conseiller la pan-hystérectomie dans les cas de môle. Cela n'arrive pourtant pas probablement parce qu'il tient compte du pourcentage relativement élévé des cas de môle dans littérature qui ne se sont pas compliqués de chorio-carcinôme.

Dans le cours de ces rapides considérations nous répétons l'expression chorio-carcinôme pour designer ces tumeurs, sans justifier ce choix, qui nous parait le plus légitine.

Chorio indique la localisation de la néo-formation et carcinome exprime approximativement son origine et son évolution: ce sont par conséquent deux mots bien expréssifs. Carcinome est aujourd'hui la rubrique sous laquelle on désigne tous les tumeurs épithéliales malignes. Les carcinômes se divisent en épithéliômes, tumeurs des cellules épithéliales plates et carcinomes proprement dits, de cellules épithéliales hautes. Conséquemment il parait entièrement justifié et indiqué d'employer l'éxpression carcinome pour spécifier des tumeurs formées aux dépens des cellules épithéliales des villosités choriales. Même si l'on ne veut pas considérer ces cellules comme étant un épithélium haut, on devra néanmoins dénominer ces nouvelles formations des carcinômes, puisque, comme nous venons de le dire, c'est le terme générique pour toutes les tumeurs malignes épithéliales. L'éxpression épithéliome ne comprend que les tumeurs formées aux dépens de l'épithélium pavimeteux plat, ce qui n'est pas le cas de l'épithélium chorial.

Voyons les termes moins usités dont se sont servis les auteurs pour désigner le chorio-carcinome.

SAENGER (1888) introduisit l'éxpression *déciduome*. Cet auteur croyait, en effet, que le chorio-carcinome résultait de l'hyperplasie des cellules déciduales du placenta. Mais ces cellules sont de nature conjonctive et ce nom a été mis de côté pour n'être employé que

dans les rares cas de néoplasme des cellules déciduales du placenta matérnel, tandis que le chorio-carcinome se forme aux dépens des cellules épithéliales du placenta fœtal. Trophoblastome est une expression plus restreinte que la précédente, puisqu'elle ne comprend que les tumeurs des trophoblastes (syncytiums et cellules de LANGHANS). Elle n'indiquent cependant ni la forme des unités histologiques ni l'évolution probable du néoplasme. Le terme syncytiome n'est pas seulement très restreint mais suppose aussi une notion inéxacte, la formation de la tumeur par les syncytiums, quand ce sont les cellules de LANGHANS qui prédominent. Finalement chorio-épithéliome malin de MARCHAND, dont nous avons montré les défaits.

L'expression chorio-carcinome semble avoir été employé pour la première fois par EWING dans son traité «Neoplastic Diseases», sans justifier la préférence accordée à ce nom et voulant à peine spécifier ce qu'il appelle chorioadénome.

Voilà motifs qui nous paraissaient justifier notre choix. Ce n'est pas notre intention de soulever, avec cette justification, une question byzantine de terminologie, mais simplement d'arriver à adopter une dénomination qui contienne les caractères de la tumeur, suivant les idées modernes au sujet de la classification des blastomes, ce qui est indispensable pour une bonne et complète interprétation clinique des indications anatomo-pathologiques.

En terminant les considérations au sujet de l'observation que nous présentons, nous désirions mentionner, quoique de passage les métastases et la malignité des chorio-cascinômes.

On sait, en effet, que les chorio-carcinomes se compliquent de métastases à distance, ce quin'est pas étonnant puisque ce sont des carcinomes. Ces métastases se produisent dans le foie, les reins, la rate, le cœur (BUSSE) et même dans le cerveau (KREWER); mais surtout dans le poumon et le vagin.

Les métastases suivent la voie veineuse et non la voie lymphatique comme dans les autres carcinomes. Les cellules du chorio-carcinome ont la propriété spéciale de détruire la paroi des veines et de pénétrer jusqu'à la lumière du vaisseau; de la il se détachent des cellules qui font facilement le chemin, à travers le système veineux, jusqu'au cœur droit: par la petite circulation ils atteignent ensuite les poumons ou ils sont retenus par le tamis que forment les capillaires. C'est alors que se développe la métastase. Pour arriver au vagin les cellules prennent le chemin rétrograde de la veine vaginale.

Les métastases se constituent et croissent très rapidement, ce qui n'arrive dans n'importe quelle autre tumeur maligne. Elles sont une sérieuse menace à la vie du porteur, qui peut mourrir en quelques jours si on ne se sert d'une thérapeutique énergique pour les combattre. Des hémoptyses graves des cas de métastases pulmonaires sont bien connus.

Ce sont par conséquent les métastases tumorales les plus graves qu'on connaisse par rapport à la précipitation avec laquelle elle se forment et parce qu'en peu de jours elles peuvent amener les malades à l'imminence de la mort.

Dans les autres métastases, la gravité des métastases est dûe surtout à leur localisation et aux perturbations méchaniques qui en résultent. De plus elles forment une autre tumeur, qui en s'ajoutant a la première mènent le malade plus vite à la cachexie.

Jusqu'ici, et avant que nous eussions parlé au sujet des métastases, nous sommes parvenus à maintenir une analogie presque complète entre le chorio-carcinome et les autres tumeurs. Mais dorénavant, dans l'étude de son évolution, des différences les séparent nettement, quoique la structure présente plus ou

moins le même aspect. Même avant l'apparition des métastases, les symptômes en sont provoqués par le chorio-carcinome lui même.

Ces métastases malgré qu'elles soivent plus graves que n'importe quels autres par leur évolution rapide et les symptômes généraux qui les accompagnent, sont aussi celles qui disparaissent le plus facilement.

En effet, on a observé maintes fois après l'hystérectomie chez un cas de chorio-carcinome avec métastases que celles-ci disparaissent complèment. Ce fait a été confirmé par ROCKAFELLOW, VON FLEICHMANN, NEUMANN, KELLY, TEACHER, RIESEL, EDEN, LOCKYER et même MARCHAND. Le cas plus intéréssant est celui de HITSCHAMANN et CRISTOFOLETTI, dans lesquels les métastases du chorio-carcinôme avaient envahi une grande partie du vagin, de la vessie et de la paroi pelvienne. Après pan-hystérectomie il y eut une regression totale des métastases avec réconstruction *ad integrum* des tissus atteints. La malade fut observé pendant sept ans sans qu'on put observer le moindre signal de tumeur. Le chorio-cascinome diffère donc, quant à son évolution, des carcinomes en général. Dans ces derniers la présence des métastases accentue la malignité de la tumeur, rend le prognostic plus sombre et établit contre-indication de l'intervention cirurgicale. Dans les chorio-carcinômes la présence de métastases est toujours une indication en faveur de la pan-hystérectomie immédiate.

Comme nous l'avons déjà dit, les chorio-carcinomes forment des métastases par voie veineuse, malgré qu'ils soient des tumeurs épithéliales. Dans le cas de M. le Dr. CAMILLO BICALHO il est intéréssant que la régréssion des métastases (dont l'existence etait évidente au point de vue clinique) eût lieu après la râclure. Ceci semble démontrer qu'il n'est pas nécessaire d'enlever toute la tumeur; il est suffisant de débarasser l'organisme d'une grande partie pour que les métastases disparaissent, au moins en partie. L'étude de la forme particulière, de la malignité et de la façon de se conduire des métastases, des chorio-carcinomes a permis d'établir certaines conclusions pour la clinique gynécologique.

D'accord avec les meilleurs auteurs, on peut donner comme définitives les suivantes:

1º. La présence de métastases indique pan-hystérectomie immédiate, sans intervention sur les dites métastases;

2º. Chaque fois qu'après un cas de môle, soit à un interval de quelques jours soit des quelques mois, la malade a des hémorrhagies, il faut pratiquer la pan-hystérectomie;

3º. On ne doit pas employer le WERTHEIM parce que les métastases ne se produisent pas par voie lymphatique.

Tandis que les métastases du chorio-carcinome chez la femme ont une régression facile après extirpation de la tumeur primitive, les métastases du chorio-carcinome chez l'homme (tératomes choriaux) dans les mêmes conditions, ne montrent pas la moindre inclinaison à suivre cette marche.

Ces dernières se conduisent comme les autres métastases des carcinomes en géneral et se développent d'une manière autonome sans dépendre nullement de la tumeur primitive. En effet EWALD FRITZE étudie dans son travail «Beiträge zur Kentniss der Chorionepitheliome bei Männern, Zeitschrift für Krebsforschung» 34 chorio-carcinomes chez l'homme et montre l'insuccès des interventions et l'indépendance de développement des métastases. Ces différences d'évolution des métastases chez l'homme et chez la femme attirent l'attention parce que jusqu'à un certain point elles semblent paradoxale.

D'un autre côté il faut voir que le

chorio-carcinome maternel est la seule tumeur formée aux dépens des cellules qui n'appartiennent proprement pas au porteur de la néo-formation. En effet le chorion fait partie du placenta fœtal. Les cellules du chorion qui constituent la tumeur appartiennent donc au nouvel organisme. En face de cette considération on arrive toute de suite à dire que le nouvel organisme est toute-fait identique à l'organisme maternel, puisque c'est aux dépens de celui-ci qu'il se forme. La cellule maternelle, l'ovule après la fécondation, se transforme en œuf, et subit des modifications radicales statiques et dynamiques. A première vue on dirait que les modifications doivent être très légeres puisque l'embryon se nourrit aux dépens de l'organisme. Mais quand on reflêchit sur la influence de l'hérédité paternelle il faut avouer que l'embryon est un nouvel individu de la même espèce mais de constitution déjà différente.

Ainsi dans le chorio-carcinome de la femme il y aurait introduction de cellules étrangères dans l'organisme. Si ces cellules ne sont pas totalement diverses, elle le sont suffisamment étant donnée la spécificité cellulaire pour déterminer la formation d'anticorps ferments dans l'organisme. Et ce fait nous donnerait une explication facile de la régression des métastases des chorío-carcinomes chez la feme. Il ne manque pas d'interprétations logiques pour expliquer pourquoi les métastases ne sont desintégrées par les ferments qu'après extirpation de la tumeur primitive. Mais il vaut mieux ne pas continuer à engendrer des hypothèses qui ne constituent pas des éléments de démonstration pour les faits biologiques. Les hypothèses logiques en biologie ne doivent servir qu'a démontrer les expériences qui les justifient.

Une fois démontré que les cellules choriales qui constituent les chorio-carcinomes introduites dans l'organisme maternel déterminent la formation de ferments on comprendra facilement pourquoi les métastases de ces tumeurs épithéliales malignes ne parviennent pas à se développer, quoique jouissant des mêmes propriétés que les autres tumeurs de ce genre. Et puisque chez l'homme les cellules du chorio-carcinome appartiennent au porteur lui même il n'y a pas de formation d'anticorps et portant persistance des métastases et développement en dépit de l'extirpation de la tumeur primitive.

Rio, le 25 Juillet 1921.

Alvares Penna.

On the histopathologic lesions of the bone-marrow in immunisation for agglutinin production

by

Dr. C. MAGARINOS TORRES.

I—Introduction and History.

II—Subjects and methods of research.

III—Histopathology of the bone-marrow.

IV—Conclusions.

(With plates 17—22.)

The research work carried out during the last few years tends to indicate the blood forming organs, bone-marrow, spleen, and lymphatic glands, as the seat of production of antibodies.

Applications of X rays, benzol, thorium X, etc., produce lesions in the blood-forming organs of animals undergoing immunisation and modify the graphics relating to the production of various antibodies.

On the other hand the concentration of antibodies in the serum is considerably increased by substances that stimulate the blood-forming organs, such as arsacetin and salvarsan, independently of a new injection of antigen. Fragments of spleen and bone-marrow cultivated outside the body, are also able to produce antibodies. Each of these organs produces certain kinds of antibodies; thus the agglutinins are produced chiefly by the bone-marrow, which is not however the hemolysin-producing organ.

It is as yet impossible to ascertain the function of the liver and ductless glands in the production of antibodies, as research work on the subject has yielded such contractory results. It seems likely that the ductless glands (specially the thyroid and the parathyroid) do not actually produce antibodies

but merely influence and control the concentration of these antibodies in the serum.

Most of the litterature furnishes scant information on histopathologic lesions of the blood-forming organs, dealing merely with the physiologic side of the question, the subject considered being the antibody producing capacity of the bone-marrow.

The complexity of the origin of antibodies amply justifies an interest in histopathologic research which may furnish a solid basis for discussion.

There is an abundant literature on the subject of immunity but almost none of it deals with this side of the question.

GUERRINI (1903) immunised rats with broth cultures of *Bacillus murisepticus* and found histological lesions in lungs, heart, kidneys and nervous system, a few hours after the injection of the immunising substances. There was nothing characteristic about these, they were quite similar to the ones produced in all intoxications ; the lesions of the adrenals, liver, spleen and bone-marrow, however, showed other alterations besides ; in adrenals and liver nuclear turgescence and chromatin-disaggregation ; in spleen and bone-marrow : numerous macrocytes with polymorphic nuclei.

GAY and RUSK (1913) immunised rabbits by repeated intra-venous injections of washed guinea-pig corpuscles and inoculated again fresh washed corpuscles after an interval of two or more weeks. They made a careful histopathological examinaüon of subjects killed successively, 1,4 and 24 hours, 4 and 6 days after inoculation and attempted to show evidences of functional activity of certain cells which might be supposed to have formed the antibodies. The only alteration found was the striking increase of glycogen in the liver of the subject killed 24 hours after injection. They themselves are doubful as to the interpretation which should be given to this.

METALNIKOW and GASCHEN (1922) studied in Intertebrates, (Larvæ of *Galeria)*, the processes of immunity principally the changes in the blood. At first there is a reaction of the various leucocytes and phagocytes and after that a phagocytic reaction ; in the third place a leucolysis and phagolysis with the freeing of intracellular ferments and antibodies. Shortly afterwards there is a reaction of the spherular cells, which seem to play an important part in immunity. Finally there is a formation of giant-cells and of capsules. The above-mentioned authors think that immunity is the result of a very complex reaction of the cells of the organism and that these reactions are specific for each microbe injected.

SESTINI (1922) observed a thyroid hyperfunction in immunised guinea-pigs *(B. typhi)* which takes the form not only of increase of lipoids and fuchsinophile granules and modification of colloid substances but also of changes in the cells of the vesicles and intravesicular thyroid epithelium, which correspond really to a state of telangectoid hyperplastic struma.

The publications of FOÀ (1889), DOMINICI (1900), LENGEMANN (1901), MUIR (1901) LONGCOPE (1915), EVANS (1916), etc. on the alterations in these organs in different infections and the production of leucocytes in leucocytosis furnish indirect information on the histopathologic lesions in immunitity.

History.

The hypothesis on the origin of antibodies, deduced from the leading opinion of different research-workers can be thus expressed:

1°) All the cells in the body take part in the formation of antibodies; the cellular protoplasma is the seat of the production of antibodies; as an immediate consequence we have the opinion that many tissues can produce antibodies locally.

The primary hypothesis of EHRLICH, according to which all the cells in the body would take a part in the formation of antibodies, is sufficiently known. The local production of antibodies was put up by the first research-workers (ROEMER, VON DUNGERN, WASSERMANNANN and CITRON). Subsequent research cast doubts on this opinion and indicated that the contrary was the case. HEKTOEN (1911) carried out experiments, the result of which do not favour the local production of specific antibodies, in dogs injected with rat and goat corpuscules, at any rate in the tissue of the pleura, the cellular subcutaneous tissue and that to be found in the anterior chamber of the eyeball. Injection of red corpuscles of rat or goat in the anterior chamber of the eyeball in dogs is followed by the appearance of specific antibodies ind the blood an frequently in the aqueous humor. Antibody concentration is greater in the aqueous humor of the injected eye but is decidedly less in both eyes than in the blood ; antibodies do not appear first in the aqueous humor but in blood. Injection of rabbit or goat corpuscles in the pleural cavity of dogs is followed by the appearance of specific antibodies in the blood and in the pleural exudates, having been produced by the injection of aleuronate. The concentration in the pleural exudates is not greater than in the blood

and often is less, the concentration in the blood being in this case slightly lesser than after intravenous injection of the same quantity of antigen. There is no difference in the proportion between the richness in antigen of the blood and the pleural exsudates in dogs, injected with antigen in .he pleural cavity, and dogs, injected intravenously. Dogs inoculated subcutaneously with blood corpuscles of goat or rat on the fore leg, do not show a lesser production of antibodies than others on amputation during first phases of antibody-production.

Besides, if antibodies were produced locally at the site of injection of antigen in subcutaneous cellular tissue, it would be reasonable to expect subcutaneous injection of antigen in many places to increase the production of antibodies, which has not been found to be the case.

ZINSSER (1918) seems to be inclined to admit that the formation of antibodies is not the functionof special organs but that many of the cells of the body are able to take part in the process; this opinion is founded principally upon the experiments on local immunisation of WASSERMANN, CITRON, and ROEMER, which, as has been seen, were aftewards contested.

Of late OSHIKAWA (1921) managed to graft the skin of actively immunised rabbits on normal rabbits and to ascertain the formation of antibodies in the latter. His protocols, however indicate this antibody-formation to be very small, thus in two cases the titre of the agglutinating serum of the rabbits, on which the grafting was carried out, did not exceed 1/10, although in one case the titre of the rabbit that furnished the skin fragments was equal to 1:640 (Immunised with *B. paratyphi B);* in other experiments the serum of the rabbit, on which the skin fragments were grafted, attained the titre of 1:160 at the end of 9 days (immunisation with *B. proteus).* We find the concentration of agglutinin in the serum of the rabbits on which the grafting was carried out very slight to permit cathegoric conclusions; it must be remembered that the blood forming organs of the rabbit, specially the bone-marrow, are very sensitive to pathologic lesions; it would be quite plausible to suppose that the grafting of the skin alone had influenced the antibody contents of the blood; the operation might have had a similar influence to the injection of peptone or of an irritating substance into the bone-marrow.

2°) The antibodies are produced specially by some of the cells of the organism, principally the leucocytes of the blood.

METCHNIKOFF (1897) had the idea that the bacterioid substances of the serum might be produced by the leucocytes.

BORDET (1895), following this theory, ascertained that the serum had a greater preventive value than the plasm (which contains few leucocytes) and concluded that the leucocytes play an important part in the production of protective substances.

GRUEBER (1897) suggested that the polymorphonuclear leucocytes form the agglutinin. This was found to be a mistake by the experiments of ACHARD and BENSAUDE, WIDAL and SICARD, PATSCH and KRAUS and SCHIFFMANN.

In the case of antitoxins, it was thought that the cells specially attacked by the toxin were the the ones that produced the antibody; an instance of this are the ideas of WASSERMANN and TAKAKI on the formation of tetanus antitoxin by the nervous cells. This was immediately found to be erroneus by METCHNIKOFF and MARIE.

V. DUNGERN (1902) finds that the blood-cells take part in the formation of precipitins.

KRAUS and LEVADITI (1904), dosing precipitins in the organs of immunised animals, found that, of all the organs studied, only the epiploon formed highly-precipitating extracts; as the epiploon harbours an accumulation of leucocytes, they concluded that these were chiefly responsible for the antibodies,

KRAUS and SCHIFFMANN (1906) found that rabbits having undergone splenectomy produce precipitating sera, as well as normal ones; they think that precipitins are not formed in the organs but in the vascular system, since, with the exception of the epiploon, no organ possesses precipitins before the serum.

The same authors (1906) ascertained that agglutinins can appear in considerable proportions in the serum without existing at the same time in the extracts of organs; when found in them, it is perceptibly less concentrated than in the blood; the bone marrow has a greater quantity of agglutinins than the spleen and lymphatic glands.

STENSTRÖM (1911), inoculating polymorphonuclear leucocytes together with the antigen (*B. typhi*), observed a decrease in the formation of agglutinins; in consideration of this he is of the opinion that the leucocytes either produce agglutinins or contribute indirectly to their production.

FONSECA (1912) thinks that the leucocytes play the most important part in the formation of antibodies; his hypothesis is based on the fact that "organs attacked by infections that confer immunity in a greater or lesser degree, generally show, on specific counting, an increased number of lymphocytes".

BACHMANN (1918-1919) showed that the leucocytes of immunised animals acquire an important specific property which protects guinea pigs when injected together with B. typhi in the peritoneum; the author extracted from the leucocytes the products that ensure this protection.

The results of LEVADITI and BANU's experiments (1920) do not speak in favour of the local formation of agglutinins in the subcutaneous cellular tissue; thus the inflammatory process and oedema, which constitute the local lesion when one injects an emulsion of *B. typhi* with gelatin and colloidal mercury, do not influence favourably but on the contrary hinder the formation of agglutinating antibodies.

TISCORNIA (1921) ascertained that leucocyte extracts of guinea-pigs, immunised against *B. typhi*, when

inoculated in the peritoneum together with a minimum lethal dose, showed quite definite protective properties He concludes from his experiments that in a phase of immunisation the leucocytes, and specially the neutrophiles play a part in the production or modification of special cellular substances; the demonstration of these substances is easy when they are freed suddenly and violently from the leucocytes, but in the circulating blood they are probably secreted in a certain quantity. One may deduct that the production of these special immunising leucocytic substances and their appearance in the circulation being more prompt and intense, is a result of the leucolysis following every leucocytosis.

METALNIKOW and GASCHEN (1922) attribute an important part in the formation of antibodies in invertebrates (Galeria larvae) to various cells of the blood of these insects.

ROBERTSON and ROUS (1922) assert the existence of intercellular agglutinins in the red blood-corpuscules of the rabbit, and declare them to be easily demonstrable in the watery extracts of dried corpuscles.

4°) The antibodies are formed by hematopoietic organs:

PFEIFFER and MARX (1898) titrating simultaneously bactericid antibodies in serum and leucocyte-extracts, demonstrated that the leucocyte-extracts showed no excess of antibodies as compared to the serum and ascertained besides a decided accumulation of antibodies in certain organs of the rabbit (spleen, bone-marrow, lymphatics glands, and to a lesser extent, the lungs) during the first days of immunisation. The spleen showed, already on the second day, a perceptible quantity of protective substances against cholera, although the blood showed no sign of a specific alteration. They thought the hematopoietic organs to be the point of origin of the antibodies, and that any excess of antibodies in these organs would represent an excess of production not accompanied by an equally rapid elimination into the blood.

DEUTSCH (1899) ascertained that splenectomy preceding an immunising injection does not prevent the formation of agglutinins; carried out 3-5 days after the injection it prevents quite clearly the formation of antibodies.

V. EMDEN (1899) immunising rabbits with *B. aerogenes* and searching for agglutinins in the blood and various organs verified that sometimes spleen extracts have a higher agglutinating titre than the blood; agglutinin-formation is hindered by splenectomy, but even so continues; he therefore admits that besides the spleen other organs, specially lymphoid organs are able to elaborate agglutinins.

WASSERMANN (1899) studied the action of sera and extracts of different organs of rabbits immunised with virulent pneumococci on the course of experimental pneumococcus infection. The extracts of bone-marrow showed greater quantities of antibodies than any other organ, and, in the first stages of immunisation the protective power of bone-marrow and of other blood forming organs exceded that of the serum. He thinks that the bone-marrow is the seat of the production of antibodies and that the lymphatic glands, the thymus and spleen are simply reservoirs.

JATTA (1900) ascertained that the agglutinating titre (*B. typhi*) of spleen extracts, between second and fourth day of immunisation, is considerably superior to that of the blood, equal to it on the fourth day, and considerably inferior to it on the eight day.

HEKTOEN (1909-1910) pointing out the irregularity of the graphics of the production of different antibodies in the same animal suggested that they are distinc substances, the production of which depends on a similar but not identical mechanism.

LIPPMANN (1911) after immunising animals with repeated inoculations of killed cultures of *B. typhi*, left them for 4 months during which the agglutinating titre decreased gradually to a constant mean figure; then injected them with 0,1 gr of arsacetin, a substance whose stimulating influence on the blood forming organs is well known and applied in the treatment of anemia. He ascertained a rapid rise in the titre of the agglutinins which attained its maximum at the and of 6-9 days.

HEKTOEN (1916) verified a reduction in the formation of antibodies in animals intoxicated with benzol together with severe lesions of the bone-marrow, leucopenia and other lesions characteristic of benzol-intoxication. He found also a reduction of the phagocytic properties of the leucocytes. In dogs, small doses of benzol which produce leucocytosis, increase the production of antigoat hemolysins.

Benzol acts on the elements which elaborate antibodies and the leucocytogenic centres take part in this elaboration. This is demonstrated in rabbits by the reduction in number of the leucocytes and in quantity of the antibodies, which does note take place when the benzol is given at the time when the production of antibodies is nearly at its height; in dogs by the increased formation of lysins which is accompanied by leucocytosis.

CARREL and INGEBRIGSTEN (1912) ascertained that fragments of bone-marrow and of lymphatic glands cultivated outside the organism are able to produce antibodies (hemolysins).

LUDKE (1912) ascertained the production of agglutinins and hemolysins in bone-marrow and pieces of spleen taken from guinea-pigs and rabbits 24, 48 and 60 hours after the intravenous injection of killed cultures of *B. typhi* and *B. dysenteriae* and kept aseptically in saline solution, solution of RINGER, and normal rabbit and guinea-pig serum at 37°—40° C. At the 5th day of cultivation the spleen emulsion agglutinated up to 1:160 and bone-marrow 1:320.

Inoculating directly in the bone-marrow and killing the animal at the end of 36-48 hours, amputating the femur and cultivating it in the above-mentioned culture media, he was also able to verify the existence of bactericid antibodies and agglutinins in the emulsion of bone-marrow.

TSURUMI and KOHDA (1913) came to the conclu-

sion that the spleen is the most important site of production of complement fixing antibodies and that it already contains them 20 hours after immunisation ; the production in bone-marrow and lymphatic glands is not as pronounced as in the spleen, and the quantity found later is also less.

LIPPMANN (1914) studied the influence of thorium X, and arsenical compounds on the graphics of antibody production. In animals previously immunised and allowed a month's rest, he found an increase of the agglutinins (*B. typhi*) in the serum surpassing the previously attained maximum after an application of thorium X (about 1 1/2 electrostatic units per kilogramm of weight). This he attributes to a stimulating influence of thorium on the bone-marrow. Entirely similar researches carried out with antibodies of the nature of amboceptors (hemolysins) gave negative results; neither by the application of thorium X, nor by the application of salvarsan, which has also a distinctly stimulating action on bone-marrow, did he obtain any modification in the graphics of hemolysin production. Animals (mice) injected with bone-marrow-stimulating substances (salvarsan and thorium X) resist an infection (cultures of pneumococcus) lethal to controls.

SIMONDS and JONES (1916) made researches on the influence of benzol on the production of antibodies; this substance exerts a decidedly noxious action on the blood forming organs, specially on the bone-marrow. They noticed a lowering in the graphics of the production of hemolysins, agglutinins and opsonins as compared with controls; this reduction was most accentuated in the case of hemolysins and least in that of opsonins.

SIMONDS and JONES (1915) investigated the modifications in the production of antibodies, on the one hand in rabbits subjected to the action of X rays, which have a specific destructive action for lymphadenoid tissue, on the other hand on animals treated with benzol, which exerts a specific destructive action on the bone-marrow. The action of X rays is not as specific as was supposed; since HEINKE demonstrated that it also produced lesions in the bone-marrow, a fact which ought to be taken into account when reading SIMONDS and JONES results. These are as follows: a) the formation of agglutinins in animals exposed to X—rays is markedly reduced, though not as much as in rabbits inoculated with benzol; b) bacteriolysin-formation does not appear to be much influenced by exposure (o x-rays; c) there is no perceptible modification in the contents of the se rum in opsonins and of the complement-fixing power in rabbits exposed to X—rays.

HEKTOEN (1918), who stands for the formation of the antibodies by the blood forming organs, ascertained that the esposure of animals to X—rays harmed considerably and sometimes even prevented entirely the formation of antibodies, when carried out at the time of the injecting of antigen, having, on the contrary, no effect when the injection was made at the time when the production of antigens was at its height ; a similar resistance was shown by animals inoculated with benzol ni the period of active production of antibodies.

Experiments of HEKTOEN (1920) seem to indicate clearly that, after the process of formation of antibodies is well on its way, splenectomy has little or no influence of the contents of the serum in antibodies, although at times, its effect was uncertain and variable ; thus in a rabbit after the injection of a big dose of sheep blood, splenectomy has little or no effect on the production of antibodies; on the other hand if it is carried out on the same animal, even many weeks beforehand, it has an influence on the formation of precipitins.

MORESCHI and VOTKY and HOWELL (1920) observed the absence of agglutinin and opsonin formation (HOWELL) in patients of leukaemia in which lesions of the bone-marrow are intense.

An argument in favour of the formation of agglutinins by hæmatopoietic organs and specially by the bone-marrow, consists in the regeneration of the blood provoked in immunised animals, by repeated bleedings and accompanied by an increased production of antibodies. This fact was estabiiahed by HAHN and LANGER ; the authors who reproduced their technic did not confirm their results. It seems, however, that these depend on the opportuness of the bleeding, for JOTTEN (1920), who was unable to obtain any results with HAHN and LANGER's technic obtained an increase of 40 to 100 times (according to whether the results were read after 2 or after 24 hours) on the titre of the serum in agglutinins (*B. typhi*), by bleeding rabbits of 5 or of 20 cc. from the second day of inoculation.

Intravenous injections of chlorides of manganese, nickel, cobalt and zinc produce a marked and rapid increase in the concentration of agglutinins and diphteria antitoxin (WALBUM, 1921).

5o) Organs other than the blood-forming ones also influence the production of antibodies.

M'GOWAN (1909), studying the lesions of the organs of rabbits inoculated with chicken red-blood corpuscles, noticed an acumulation of theses injected corpuscles in tha sinusoids of the liver, to a greater extent than in any other organ and lasting much longer ; he thought this accumulation in the liver, together with the known phagocitic activity of the hepatic cells and their well-known action on the products of digestion, reinforced the idea that the liver was the seat of the formation of antibodies. These are very unsubstantial facts to support such an assertion.

NOLF and MULLER (1911) are of the opinion that natural cytolysins (normal alexins and amboceptors) have their origin somewhere about the liver. Their principal experiments try to demonstrate the prompt disappearance of natural complement and amboceptors after the suppression of the hepatic circulation, and their persistance after an extreme traumatism, such as the extirpation of all the abdominal organs with the exception of the liver, provided the latter remain physiologically (functionally) intact, as also the possibility of increasing the

alexic and sensitising power of the blood by making it circulate in live isolated livers.

HOUSSAY and SORDELLI (1921) found that rabbits dogs and horses, whose thyroid was extirpated, furnished a greater quantity of hemolysins, agglutinins and antitoxins than controls.

ECKER and GOLDBLATT (1921) showed the necessity of an exact knowledge of anatomy in the experiments of extirpation of the thyroid and para-thyroids and ascertained that thyreoidectomy with partial parathyreoidectomy did not inhibit the production of antibodies (hemolysins). whereas in the few animals who survive a complete thyro parathyroidectomy the production of hemolysins is reduced to a fiftieth of the normal.

SESTINI (1921) assertes that during immunisation against *B. typhi* the thyroid of guinea-pigs undergoes a process of hyperplasia and shows intense morphologic indications of cellular hypersecretion.

CUTLER's experiments (1922) show that the hypophysis does not have an important influence, direct or indirect, on the production and persistence of agglutinins and hemolysins in the blood, unless the part of the hypothysis which is indispensable to the survival of the animal, syould not have the same influence as the wyole gland.

6°) The antibodies pre-exist in the blood and liquid tissues of the body.

New ideas were advocated recently by SAHLI (1920).

SAHLI disagrees with EHRLICH in thinking the protoplasm not to be the seat of production of antibodies. The origin of these antibodies is the blood itself (which according to SAHLI is a secretion) and the liquid tissues ; the cells produce the antibodies physiologically responding to stimuli from the blood and liquid tissues.

The different antibodies preexist in the blood; by the admission of the antigen (immunisation) an artificial increase is obtained and this according to the well-known law that a secretion increased to cover a defiency exceeds the necessary quantity.

The production of antibodies would be merely a particular case of blood-regeneration, an excessive regeneration. This would take place on account of the following : Antigen and antibody unite in a colloidal combination and the function which the antibody exerced up to then ceases on that account.

The organism reacts to this loss of antibody, which had its own function, by an increased secretion, so as to produce a new and greater amount of antibodies.

II—Material and Methods of Research.

We examined the bone-marrow of 54 rabbits, some under normal conditions, most (40) of them in various stages of immunisation for the obtention of agglutinins.

The animals, killed when opportunity arose, where immediately necropsied; those which died in the course of the experimentation, where only made use of when the post-mortem could be carried out immediately after death.

In all cases the bone-marrow of the femur of both sides was examined.

The femur, once freed of the soft parts that covered it, was cut through, as near as possible to the epiphyses, with a costotome. At one end of the bone-canal I would make two incisions with sharps scissors and these would be extended carefully in such a way as to fracture the whole length of the bony tube.

Almost always one of the halves would then contain a perfect cylinder of bone-marrow. In the cases im which the consistency of the bone-marrow was reduced the results obtained were less satisfactory.

The piece of bone to which the marrow remained stuck was then placed in the fixing-fluid, or else the cylinder of bone-marrow was gently detached from the bone with the aid of pincers, and small pieces cut with the scissors were dropped successively in sublimate-alcohol and ZENKER-formol (without acetic acid), the fixing-fluid employed.

Embedding was carried out in paraffin and the sections were coloured by GIEMSA's fluid method (fixing in sublimate-alcohol) and with hæmatoxylin-eosin (fixing in ZENKER-formol).

In some cases the material was fixed only in ZENKER-formol in which cases the sections stained by GIEMSA's method were less satisfactory than the ones stained with hæmatoxilin-eosin. In other cases the only fixing-fluid employed was sublimate-alcohol; besides first-rate preparations by GIEMSA's method I obtained good hæmatoxylin-eosin ones: the staining in undiluted HANSEN's hæmatoxylin must then not exceed one minute.

I observed that shrinking was more

pronounced in material fixed in sublimate-alcohol than in material fixed in ZENKER-formol.

It is therefore more advantageous to use both fixing-fluids since the comparative study of the results obtained is then more instructive.

For certain purposes (research of fibrin, identification of reticulum-cells) I made use of various general methods (methods of MALLORY with anilin-blue and hæmatoxylin-phosphotungstic acid, V. GIESON, etc.).

Most of the animals were immunised by intravenous injections; a small number by intraperitoneal or subcutaneous ones.

In one group, the animals were inoculated on the same day with the same emulsion from the same 24 hours' culture of *B. paratyphi A*.

The emulsion was made in the following way:

Emulsion A. — I prepared 10 test-tubes, each one with 2 cc. of saline solution; in each tube I made an emulsion with a loop tested for 0,002 grs. taken from a 24 hours culture of *B. paratyphi* A; the contents of the 10 tubes were mixed in a flask which was then placed in a water-bath at 60°C. for an hours time; the contents were then shaken and 2 cc were placed in each test-tube; 10 rabbits were injected in the marginal vein of the ear, each rabbit with the contents of one of the tubes.

In another and larger group, I inoculated each rabbit (of the weight of 950-1.500 grs) intravenously, subcutaneusly and intraperitoneally with an emulsion in saline solution of 24 hours' culture in agar of *B. paratyphi A* (1 loop of 0,002 grs. 2 cc. saline solution, killed by heating during an hour in a water-bath at 65°C. The counting of white corpuscles was done in an American standard Hæmacytometer with LEVY counting chamber.

As a general rule I made 4 simultaneous determinations of the number of leucocytes, sometimes only 3 or 2, making use of the average of the figures obtained.

The normal number of white corpuscles in the rabbit is estimated at 5-14.000 (GRUBER), about 9.000 (HEINEKE), 9-12.000 (PROSCHER), 8-13.000 (TALQVIST). Recently PENTIMALLI, examining 10 normal rabbits, reported individual variations in the number of white corpuscles going from 4.520 to 10.300 per mm3 so that he advises great caution in the interpretation of slight oscillations: the figure 6.876 is the average he obtained.

My researches controlled by the histological examination of the bone-marrow, gave the following results:

Table I

Number of the animal	Weight	Nr. of white corp. per mm³.
Rabbit 268	1.500 grs	16.000
376	970 grs	10.697 (4 days' average)
300	1.060 grs	10.600
269	1.500 grs	7.400
		11.174 (average).

After working for some time, I was able to give SELLING's recommendation its due value, for advising one to to observe the number of white corpuscles of each rabbit on three consecutive days and after that only making use

of the ones which did not show considerable daily oscillations (1) or an abnormal number.

The following observations of mine demonstrate how sensitive bone-marrow is to pathological conditions, showing considerable morphologic modifications which would introduce an important cause of error into the interpretation of experiments carried out under such conditions.

I adopted the following method.

The rabbits were brought directly from the rabbit-hutches of the Institute to the laboratory and were killed as soon as the number of white corpuscles had been taken note of.

In table II are indicated the results obtained.

(1) These oscillations rarely exceed 3—4000 white corpuscles per mm³ of blood. The following rabbit may be taken as a normal rabbit with typical daily oscillations:

Feb. 16 th 1921—White corpuscles=9.733 per mm³ (average of 3 determinations).

Feb. 17 th 1921—White corpuscles=11.533 per mm³ (average).

Feb. 18 th 1921—White corpuscles=12.266 per mm³ (average).

Feb. 19 th 1921—White corpuscles=9:256 per mm³ (average).

Table II.

Animal	Weight	Number of white corpuscles in 1 mm³ of blood.	Killed on	Notes	Microscopic study of bone-marrow.
Rabbit 127	—	5.400	.....	.....	Congestion and slight œdema of reticulum.
Rabbit 128	—	34.400	.....	.....	Bone-marrow with normal aspect.
Rabbit 130	—	12.200	.....	.....	Slight œdema of reticulum; reduction in number of the parenchyma-cells.
Rabbit 271	800 grs.	(On June 3rd 1920 at 2.55 p. m.) 16.000	June 3rd 1920 at 3.10 p. m.	Killed by violent anaesthesis (Chloroform)	Bone-marrow showing pronounced œdema of reticulum, atrophy of fat-cells and foci of multiplication of myeloblasts.
Rabbit 268	1.500 grs.	(On July 17th 1920 at 2.45 p. m.) 16.000	July 17th 1920 at 3.30 p. m.	Do.	Bone-marrow with normal appearance.
Rabbit 269	1.500 grs.	(On July 17th 1920 at 3.20 p. m.) 7.400	July 17th 1920 at 3.35 p. m.	Do.	Bone-marrow with normal appearance.
Rabbit 275	—	———	Aug. 7th 1920 when agonising.	Do. Remained a few days in the laboratory getting rapidly thinner.	Pronounced oedema of reticulum, congestion, atrophy of fat-cells, regressive changes in parenchyma, abundance of pigment-cells (haemosiderin) are to be seen.
Rabbit 300	1.060 grs.	(On Sep. 2rd 1920 at 2 p. m. 2.00 p. m. 10.600.	Sep. 3rd 1920	Killed by violent anaesthesis (Chloroform).	Bone-marrow with normal aspect.

Under a strong power one notices that the most numerous cells are amphophil myelocytes and polymorphonuclear leucocytes, there being also found amongst them, looking like a diffused infiltration, small cells with nuclei very rich in chromatin and resembling blood lymphocytes in their morphology.

The megalocaryocytes are not found in reduced number; their nucleus appears well-stained and with its normal structure.

Many of the megalocaryocytes found enclose one or more leucocytes in their protoplasm.

The fat cells are found reduced in volume; the fat-containing vacuole is smaller than in similar cells of normal bone-marrow; in many cells this reduction amounts to one half or one third of normal volume, and, not infrequently, in others to one tenth of normal volume.

In cells whose vacuole is reduced to one half or one third, the nucleus retains its peripheric position and its normal appearance. The nucleus of cells reduced to one tenth of their volume is more evident, as it becomes tumid and vesicular; this kind of cell does not show pyknosis or any other aspect indicating regressive changes.

The appearance described for the fat-cells of rabbits 212 and 210 (enlarged nucleus, with a tendency to leave its excentric position and surrounded by a zone of protoplasm with an evidently reticular structure) was only rarely seen in this rabbit.

The lesions found in the bone-marrow of rabbit 214, killed 46 hrs 30 mins. after the commencement of immunisation can be seen in the following résumé:

1°) *Congestion and œdema of reticulum.*

2°) *Slight reduction in number of the cells of the medullary parenchyma; amphophil myelocytes and polymorphonuclear leucocytes predominate; the last are found in their normal number, but appear more numerous on account of the reduction in number of the cells.*

3°) *Dispersed infiltration of parenchyma with cells of the appearance of blood lymphocytes.*

4°) *Megalocaryocytes normal in number and in appearance many of them containing one or more polymorphonuclear leucocytes.*

5°) *Fat-cells fewer and smaller than in normal bone-marrow, with a nucleus of normal appearance; some other fat-cells very much smaller (one tenth and even less of normal volume).*

The appearance of the fat-cells I believe to indicate a stage of reconstruction or recomposition. After the loss of fat observed in the first 24 hours of immunisation and which is indicated by a special appearance of the cell (see description rabbit 212), these cells begin to regain fat-contents.

3rd. Day of Immunisation.

Rabbit 450—Weight 1.150 grs.

Killed 60 hours after inoculation.

Feb. 5 th 1920—Leucocytes: 12.15 p. m.=8000 per mm³.

Inoculated at 4 p. m. in the marginal vein of ear with 1 cc. of saline solution with a loopful (2 milligrs.) of a 24 hours' agar-agar culture of *B. paratyphi A.* in suspension. The suspension was sterilised by heating in a water-bath at 60°C. during 1 hour 30 mins.

Feb. 26 th 1920—Leucocytes (11 a. m.)=33.400 per mm³.

Feb. 27 th 1920—Leucocytes (3.30 p. m.)=34.800 per mm³

Feb. 28 th 1920.

Found dead in the morning.

Examined under good conditions of preservation.

Autopsy — Bone-marrow soft, diffluent, of a dark red colour; in the centre (in the part corresponding to the length diameter) a dark-red and strong cord stands out from the medullary parenchyma (central vessels of bone-marrow).

Microscopical study.—Section of the material fixed in ZENKER-formol and

stained in hæmatoxylin-eosin and fluid GIEMSA.

Cellular contents of marrow approximately normal.

Capillary congestions remains very marked (Fig. 9, Pl. 21).

The œdema has suffered resorption and is only to be seen here and there in an inconspicuous manner.

The most abundant cells are amphophil myelocytes and polymorphonuclear leucocytes (Fig. 10, Plate 21); some myelocytes show mitotic figures and dispose themselves in foci.

Conspicuous foci of division of erythroblasts (normoblasts) are to be seen, some of them not only in the middle of the parenchyma, but also round the medium-sized vessels and prae-capillaries (Fig. 11, Plate 21).

The diffuse infiltration of the parenchyma by cells with the appearance of lymphocytes is evident. (Fig. 9, Plate 21).

The fat-cells show the same appearance as in rabbit 214.

Almost all megalocaryocytes contain in their protoplasm some polymorphonuclear leucocytes; some megalocaryocytes show regressive changes.

The similarities and differences between the ones here described (3rd day of immunisation) and the previously indicated ones are the following:

Tere is a beginning resorption of the œdema of the reticulum.

The bone-marrow is almost as rich in cells as under normal conditions, these cells are principally myelocytes and polymorphonuclear leucocytes.

Foci of regeneration of hæmoglobin-containing elements (perivascular foci of erythroblasts (normoblasts)) begin to appear.

Regeneration and replacement of fat-contents of fat-cells continues.

Lymphocytes become scarcer and loose the appearance of a diffuse infiltration.

Megacaryocytes show a pronounced phagocytic activity and undergo processes of desintegration.

3rd. Day of Immunisation.

Rabbit 216. --Weight 1,300 grs.

Inoculated in marginal vein of ear with a sterilised *B. paratyphi A.* emulsion (emulsion A) at 3.30 p. m. on April 7 th 1920.

Killed at 12,50 p. m. on April 10 th 1920 (72 grs, and 20 mins. after inoculation).

Autopsy carried out at once.

Autopsy—Bone-marrow (femur) with normal soft consistency and dark red colour. Disseminated spots of a whitish colour are to be seen.

Microscopic study.—Sections fixed in ZENKER-formol stained in hæmatoxylin-eosin and fluid GIEMSA.

Under a weak power congestion of capillaries, œdema of reticulum, reduction in parenchyma cells, disappearance of fat-cells and increase of fixed connective-tissue cells (Fig. 3, Plate 20), the latter dicreased are to be observed.

A strong power shows that the dominant cells are myelocytes and leucocytes; there is also a diffused but not intense infiltration of cells with the appearance of lymphocytes.

Myelocytes are frequently found in little groups of 2, 3, 4 or 6, rarely of more cells; the most numerous groups are the ones of 4 (Fig. 6, Plate 20).

The bone-marrow shows an evident decrease in number of cells.

These cells are found close to the capillaries.

This *perivascular distribution* of marrow cells (in this case polymorphonuclear leucocytes and myelocytes) in this rabbit can be looked upon as a striking example.

The fat-cells are not in evidence; in their protoplasm no fat-containing vacuole is visible; limits of protoplasm are indistinct and merge into the œdema-fluid of reticulum. These cells are only recognisabe by the structure of their

nuclei and by comparison with their appearance in other rabbits, in which transition types between these and typical fat-cells are to be found. I must call attention to the resemblance of the nucleus of these atrophied cells to those of fixed connective tissue cells.

The nucleus of fat-cells retains a typical structure in spite of the most marked alterations of the protoplasm: thus, after the total loss of the fat-contents of the protoplasm, the nucleus is only slightly more tumid and rounded and has left its peripheric position to occupy the centre of the cell. The arrangement and disposition of the nuclear chromatin is very similar to that of fat-cells from normal bone-marrow. One would be inclined to say that the important modifications of the fat-contents were physiological and not pathological.

In this bone-marrow increase in number of the fixed connective tissue cells is evident; in some places (Fig. 8, Plate 20), the parenchym is made up of 10 to 15 cells placed side by side and one behing the other. The nuclear structure of these is that of the fibroblasts; the connective tissue fibrils can be clearly distinguished.

These points where many fibroblasts place themselves side by side are not very common, however: almost always fibroblasts of characteristic appearance are seen mixed with other bone-marrow cells. All those who have studied normal bone-marrow will be well aware of the difficulty of recognising the fixed connective tissue-cells under normal conditions.

Besides small cell foci which are the foci of division of myelocytes and of hæmoglobin-containing cells (megaloblasts and normoblasts) other more extensive foci, made up of numerous densely grouped cells and contrasting markedly with the neighbouring parenchyma, are to be seen (Fig. 7, Plate 20).

Under a strong power the cells which make up the dense groups are seen to be numerous polymorphonuclear leucocytes: Many of these in one point, covering one another show a pyknotic nucleus and others are evidently undergoing complete desintegration. This point gives the impression of a small *infarct* (Fig. 7, Plate 20).

Among the densely grouped cells indicated may be seen the characteristic cells of bone-marrow parenchyma.

Condensing the facts, the bone-marrow of this rabbit, killed 72 hrs. 20 mins. after the commencement of immunisation, shows the following points of interest:

1°) *Regeneration of polymorphonuclear leucocytes (by intense division of myelocytes) is the dominant feature.*

2°) *Fat-contents of the fat cells are noticed to have disappeared completely.*

3°) *Infiltration of lymphocytes, so marked in rabbits 212 and 214, is in this case very slight.*

4°) *In this case hyperplasia of the fixed connective tissue cells is seen for the first time in this series.*

5°) *Other foci besides foci of regeneration of haemoglobin-containing cells (perivascular foci of megaloblasts and normoblasts) are seen.*

6°) *The whole process is evidently belated, as compared to the process observed in rabbit 150, killed 60 hours afte the commencement of immunisation.*

6th. Day of Immunisation.

Rabbit 407 – Weight 1.030 grs.

April 28 th 1921—1.35 p. m.—Leucocytes=16 750 (average).

April 29 th 1921—1.30 p. m.—Leucocytes=10 250 per mm³ (average of 4 measurements).

May 1 th 1921—2.00 p. m.—Leucocytes=15 800 per mm³ (average of 4 measurements).

May 5 th 1921—1.40 p. m.—Leucocytes=14 230 per mm³ (average of 4 measurements).

May 6 th 1921—12.55 p. m.—Leucocytes=14 350 per mm³ (average of 4 measurements).

May 6 th 1921—Subcutaneous injection of 1 loopful of 2 milligramms of a 24 hours gelose culture of *B. pa-*

ratyphi A. in suspension in saline solution and killed in a water-bath at 62°C. during an hour.

May 12 th 1921—Rabbit was killed by violent narcosis with chloroform (death took place in 1.20 mins).

Histologic study—Under a weak power the bone-marrow is seen to be rich in cells, less so however than under normal conditions; the regularly distributed vacuoles which in normal bone-marrow correspond to fat-cells appear to be wanting.

Under a strong power, the fat cells are seen to be reduced in volume and have to a certain extent disappeared; here and there a fat-cell strongly reduced in volume and with its nucleus migrated towards the centre is to be seen; almost always the part of the reticulum round it is strongly stained by eosin.

There is no congestion.

The œdema of the reticulum is less marked than in the preceding rabbits; it is confined to certain parts of the reticulum which are intensely stained by eosin.

Of parenchyma cells, the most numerous are polymorphonuclear leucocytes which quite mask the remaining parenchyma cells.

Erythrogenetic groups are in evidence.

Megalocaryocytes with normal appearance and distribution.

Examining sections from different blocks, I noticed slight modifications of the aspect indicated; in some points there was more accentuated œdema and parenchyma cells were less numerous.

7th. Day of Immunisation.

Rabbit 218—Weight 1300 grs.

Inoculated in marginal vein of ear with 1 cc of a suspension of *B. paratyphi A.* (liquid A) at 3.30 p. m. on April 7 th 1920.

Found dead on April 4 th 1920. Necropsied when still well preserved.

Autopsy.—The bone-marrow (femur, both sides) shows firm consistence and a shining surface; colour is brick red and fine granulations, white and refringent, are to visible.

Histologic study.—Under a weak power the appearance of the bone-marrow is entirely different from the normal.

Capillaries are dilated and filled with red blood corpuscles (Fig. 13, Plate 22).

The parenchyma cells, which are numerous, show a tendency to group themselves along the capillaries (Fig. 13, Plate 22.)

Under a strong power the myelocytes are seen to be the dominant element. Not only do amphophil myelocytes constitute the majority of the cells found round the vessels but they also form groups of 4 or 6 cells in the parenchyma, between the capillaries, where they place themselves over the fat-cells (Fig. 16b, Plate 17); in the latter case they have the appearance of a group of cells (myelocytes) surrounded by a clear halo (body of the fat-cell).

Other fat-cells have approximately normal dimensions (Fig. 16a, Plate 17).

Polymorphonuclear leucocytes are scarce. Lymphocytes are not plentiful; they are found mostly round the small arteries.

The hæmoglobin-containing elements affect a grouped disposition; these groups are formed by few cells and are much less conspicuous than the ones of myelocytes; it is easy to find erythroblasts with *karyorrhexis*.

Myelocytes are as numerous as in the normal organ; many of them contain phagocyted granulocytes.

Foci made up of big cells with an elongated nucleus and sometimes narro wing towards the middle (shape of a figure 8), with little chromatin, which I take to be connective tissues cells, are often seen in the sections. Only once and again do these foci contain any other cells besides connective tissue cells; sometimes a granulocyte sometimes non-granular mononuclear leucocytes.

Rabbit 373—Weight 1400 grs.

Feb. 4 th 1921—Leucocytes (1.25 p. m.)=16 550 per mm³ (average).

Inoculated at 1.10 p. m. on same day with 1 cc of saline solution with a loopful (itrated for 2 milligramms) of a killed 24 hours gelose culture of *B. paratyphi A.* The injection was carried out uneventfully.

Feb. 11 th 1921—At 2.00 p. m. the rabbit died. It was at once autopsied.

Autopsy.—Subject in strongly emaciated. Viscera-lungs, liver, spleen, heart and kidneys show a normal aspect. There is no pneumonia, coccidiosis lesions or myxoma.

Bone-marrow of a more or less firm consistence; it is pale in ill-defined tracts, brownish-red in others and is rather opaque than otherwise.

Histologic study.—The lesions of the bone-marrow are of the same kind as those of rabbit 218, with slight individual differences. The parenchyma cells are less abundant than in rabbit 218; there is active hyperplasia of the myeloid cells, which group themselves round the vessels and make up foci in the substance of the parenchyma.

The polymorphonuclear leucocytes, in opposition to the previous case, are very numerous, as numerous as the myelocytes.

The fat cells are noticeably smaller than normal fat-cells. Erythrogenetic groups are not conspicuous.

The lesions of the bone-marrow on the 7th day of immunisation are chiefly hyperplasia or intense proliferation of myelocytes, which group themselves round the vessels in a quite evident way; the evolution of myelocytes towards polymorphonuclear leucocytes goes on in an active way; there is individual variation with regard to the numerical prevalence of these two kinds of cells.

There is persistance of the capillary congestion; the œdema of the reticulum is inconspicuous.

The fat-cells are reduced in volume; some of them, however, have already regained their size; others are hidden by the hyperplastic myelocytes.

Cells belonging to the class of the hœmoglobin-containing cells are found, but are very much less conspicuous than those belonging to the myeloid class of the myelocytes.

Small foci of fibrosis (proliferation of connective tissue cells) are plentiful, and indicate, probably, the organisation of small hœmorrhagic foci.

10th Day of Immunisation.

Rabbit 405—(1)—Weight 950 grs.

April 11 th 1921—Leucocytes= 14 400 per mm³ (average).

April 11 th 1921—(T. 20 p. m.) Leucocytes=16 500 per mm³ (average).

April 14 th 1921—(41.10 p. m.) Leucocytes=18 450 per mm³ (average).

April 15 th 1921—(12.40 p. m.) Leucocytes=19 550 per mm³ (average).

April 16 th 1921—(12.35 p. m.) Leucocytes=15 333 per mm³ (average).

On April 16 th 1921 he was inoculated intraperitoneally with 1 loopful (2 milligramms) of a 24 hours culture on slanting gelose of *B, paratyphi A.* killed by heahring in a water-bath during an hour at 65ºC.

April 26 th 1921—Killed by violent narcosis with chloroform at 2.15 p. m.

Death occured after 1.15 mins.

Autopsy—The bone-marrow did not show any macroscopic lesions.

Rabbit 408—Weight 1.140 grs.

April 28 th 1921—(1.40 p. m.)—Leucocytes=10 950 per mm³ (12 800=11 600=10 600=8 600).

May 4 th 1921—(1.30 p. m.)—Leucocytes=15 950 per mm³ (16 800=14 800=14 600=13 600).

May 5 th 1921—(2.05 p. m.)—Leucocytes=19 400 per mm³.

May 6 th 1921—(1.00 p. m.)—Leucocytes=12 850 per mm³ (13 000=12 400=11 600=10 400).

On May 6 th 1921, at 1.45 p. m,, this rabbit was inoculated subcutaneously with a loopful (2 milligramms) of a 24 hours culture on gelose of a *B. paratyphi A.* in suspension in saline solution and sterilised by heating in a water-bath at 65ºC. (1 hour).

May 16 th 1921—The rabbit was killed by violent narcrosis with chloroform (15 mins.).

---

(1) This rabbit (405), which showed an abnormal number of leucocytes in the days preceding immunisation, was used nevertheless for our studies, as the lesions of the bone-marrow were perfectly similar to those found in the following rabbits which had a normal number of leucocytes.

Table III.

Rabbit	Weight	Date	Time	Number of leucocytes per mm³ of blood.	Death	Microscopic study of bone-marrow.
375	1.180 grs.	Feb. 16th921 Feb. 17th921 Feb. 18th921 Feb. 19th921	1.00 p. m. 4.10 p. m. 4.15 p. m. 11 30 a. m.	16.400 (average of 2 determ.) 14.933 (« « 3 «) 7.133 (« « 3 «) 20.600 (« « 2 «)	Violent narcosis (chloroform) at 1.15 p. m. on Feb. 19 th 1921.	Discrete oedema of reticulum and slight congestion. Otherwise the bone-marrow shows normal appearance.
376	970 grs.	Feb. 16th921 Feb. 17th921 Feb. 18th921 Feb. 19th921	1.15 p. m. 3.35 p. m. 4.00 p. m. 11.25 a. m.	9.733 (average of 3 determ.) 11.533 (« « 3 «) 12.266 (« « 3 «) 9.256 (« « 4 «)	Violent narcosis (chloroform) at 1.55 p. m. on Feb. 19 th 1921.	Absolutely normal structure.
377	950 grs.	Feb. 16th921 Feb. 17th921 Feb. 18th921 Feb. 19th921	1.25 p. m. 4.00 p. m. 3.55 p. m. 11.10 a. m.	21.700 (average of 2 determ,) 17 250 (« « 4 «) 11.750 (« « 4 «) 20.666 (« « 4 «)	Violent narcosis (chloroform); death within 2 mins, at 2.10 p. m. on Feb. 19 th 1921.	Pronounced œdema of reticulum, atrophy of fat-cells, reduction in number of the parenchyma-cells (aplasia), discrete congestion.
381	1.260 grs.	March 8th921 March 9th921 March 14th921 March 15th921 March 16th921	1.10 p. m. 12.50 p. m. 3.10 p. m. 1.55 p. m. 1.55 p. m.	10.150 (average of 4 determ.) 9.800 (« « 4 «) 14.000 (« « 4 «) 13.000 (« « 4 «) 17.800 (« « 4 «)	Violent narcosis (chloroform); death in 1.45 mins. at 4.10 p. m. on March. 16 th 1921.	Hyperplasia of parenchyma-cells (amphophil and eosinophil myelocytes with figures of karyokinesis; polymorphonuclear leucocytes).
382	1.110 grs	March 8th921 March 9th921 March 14th921 March 15th921 March 16th921	1.20 p. m. 1.00 p. m. 3.25 p. m. 2.05 p. m. 2.05 p. m.	10.900 (average of 4 determ.) 26.100 (« « 4 «) 13.600 (« « 4 «) 19.050 (« « 4 «) 15.700 (« « 4 «)	Violent narcosis (chloroform); death in 1.30 mins. at 4.25 p. m. on March. 16 th 1921.	Hyperplasia of parenchyma-cells (amphophil and eosinophil myelocytes and amphophil and eosinophil polymorphonuclear leucocytes).
383	1.200 grs.	March 8th921 March 9th921 March 14th921 March 15th951 March 16th921	1.30 p. m. 1.10 p. m. 3.40 p. m. 2.20 p. m. 2.25 p. m.	13.200 (average of 4 determ.) 8.800 (« « 4 «) 10.500 (« « 4 «) 12.350 (« « 4 «) 12.900 (« « 4 «)	Violent narcosis (chloroform) death in 1.32 mins. at 4.33 p. m. ou March. 16 th 1921.	Normal appearance.

As the animals were submitted to close observation only some time after the work was begun, I was obliged to separate the animals into groups of very different demonstrative value.

Thus we have a Group I, in which the rabbits had a normal number of leucocytes during the term of observation and were killed without having suffered inoculation; Group II, the most important, comprehending animals under the same conditions as in Group I, but having been killed or having died in different stages of immunisation.

A Group III consists of animals that showed an abnormal number of white blood corpuscles during the term of observation.

In a Group IV, finally, I included all the rabbits that where not observed 3 days before being used for experimentation.

In this way each group serves as a control for the others, and constitutes a valuable material for comparative study.

This is a highly important point in the case of animals very sensitive to bad conditions of housing and feeding and liable to suffer from various diseases, the more so in the case of a study on a tissue like bone-marrow that shows important alterations in animals which at first sight appear perfectly normal.

Rabbits immunised Against Bac. Paratyphi A.

Rabbit	N. of animal	Injection.	Death	Term of immunisation.	Observations
1	131 A	intracardiac	Killed (by violent chloroform-narcosis.)	1 hour	Rejected: abnormal number of leucocytes on the days preceding inoculation.
2	364	intravenous	« « «	1 hour	In the bone-marrow, the most evident phenomenon is oedema of reticulum and atrophy of the fat cells, with a slight reduction in number of these cells. Congestion slight; there are well preserved polymorphonuclear leucocytes and megalocaryocytes. This rabbit is believed to have been abnormal; the only determination of the number of leucocytes was made a few minutes before injection.
3	365	«	« « «	1 hour	General appearance same as in 364. What is known about this rabbit before it was inoculated (leucocytes=64 600) leads me to think it was abnormal. Aplasia more marked than in no. 364.
4	223	«	« « «	2.20 hrs	Abnormal number of leucocytes.
5	391	«	« « «	2.38 hrs	Abnormal number of leucocytes on the days preceding inoculation; the histological study of the bone-marrow confirms the opinion that this is not a normal animal.
6	392	«	« « «	2.59 hrs	Abnormal number of leucocytes on the days preceding inoculation; the histological study of the bone-marrow conforms the opinion that this is not a normal rabbit.
7	368	«	« « «	3.34 hrs	Made use of for histological description.
8	369	«	« « «	3.57 hrs	Made use of for histological description.
9	393	«	Died	15 hs.	Spleen with intense inflammation. Rejected because it was not immediately autopsied and was undergoing cadaveric alterations.
10	397	«	«	15 hrs	Rejected: cadaveric alterations.
11	394	«	«	17 hrs	
12	210	«	«	17 hrs	Made use of for histologic description.
13	211	«	«	17 hrs	
14	372	«	«	19 hrs	The histological study of the bone-marrow confirms the observation that this is not a normal rabbit.
15	398	«	«	23.30 hrs	Rejected: autopsy made hours after death.
16	151	«	«	24 hrs	
17	152	«	«	24 hrs	
18	212	«	«	24 hrs	Made use of for histological description.

Rabbits immunised Against Bac. Paratyphi A.

Rabbit	N. of animal	Injection.	Death	Term of immunisation.	Observations
19	118 C	intravenous	Died	24 hrs	
20	131 B	«	«	24 hrs	Abnormal number of leucocytes on the days preceding inoculation; 24 hrs after inoculation pronounced leucocytosis (leucocytes=231 200 per mm³).
21	410	subcutaneous	«	24 hrs	
22	213	intravenous	«	36 hrs	Made use of for histological description.
23	153	intraperitoneal	Killed (violent chloroform narcosis).	2 days	Pronounced (leucocytosis leucocytes=96 600 per mm³) 24 hours after inoculation.
24	214	intravenous	« « «	2 days	Made use of for histological description.
25	403	intraperitoneal	Died	2 days	
26	150	intravenous	«	3 days	
27	215	«	«	3 days	
28	216	«	Killed (violent chloroform narcosis).	3 days	Made use of for histological description.
29	217	«	Died	5 days	Cadaveric alterations of parenchyma-cells.
30	367	intraperitoneal	Killed (violent chloroform narcosis).	5 days	Rejected. Abnormal number of leucocytes.
31	407	subcutaneous	« « «	6 days	Made use of for histological description.
32	218	intravenous	Died	7 days	« « « «
33	373	«	«	7 days	
34	221	«	«	8 days	Made use of for histological description.
35	222	«	«	8 days	« « « «
36	154	«	Killed (violent chloroform narcosis).	9 days	
37	405	intraperitoneal	« « «	10 days	Abnormal number of leucocytes; the lesions, however, are concordan with those of normal rabbits at the same period of immunisation.
38	408	subcutaneous	« « «	10 days	Made use of for histological description.
39	409	«	« « «	10 days	« « « «
40	133 A	intraperitoneal	« « «	14 days	« « « «

III—Histopathologic Study.

4 hours of immunisation.

Rabit 368—Weight 1.050 grs.

Inoculated on Jan. 26 th 1921 at 12.55 p. m. in marginal vein, of ear with 1 cc. of saline solution with 1 loopful (2 milligrs.) of a 24 hours' gelose culture of *B. paratyphi A.* in suspension and sterilised by heating in a water-bath at 65°C. forean hour.

Leucocytes (blood taken at 1.05 p. m.)=8 800 per mm³ (average).

Leucocytes (blood taken at 1.42 p. m.)=15 800 per mm³ (average).

Killed (violent narcosis with chloroform) at 4.44 p. m.

Autopsy. — Bone-marrow red, with whitish areas; shining surface. Consistence firm, slightly reduced. Central vein moderately turgid.

Histologic Study.—The arrangement of the parenchyma cells in groups occupying the spaces between the fat-cells is altered; the cells are disarranged and less numerous than under normal conditions. The most plentiful cells are the polymorphonuclear leucocytes; these sometimes arrange themselves round a fat cell like a crown (Fig. 14, Plate 17). Polymorphonuclear leucocytes are also to be seen occupying the territory of a fat-cell (Fig. 15, Plate 17), which would indicate a marked chemotaxis of the fat-cell for polymorphonuclear leucocytes.

The blood spaces are slightly dilated; there is also an inconspicuous œdema of the reticulum.

The fat-cells keep their normal volume.

Rabbit 369—Weight 1 200 grs.

Inoculated on Jan. 28 th 1921 at 1.000 p. m. in marginal vein of (2 milligramms) of a 21 hours' culture on slanting gelose of *B. paratyphi A.* sterilised by heating in a water-bath at 65°C. for an hour.

Number of leucocytes (counted at 1.13 p. m.)=5 000 per mm³ (average).

Killed by violent narcosis (chloroform) at 4.57 p. m. (3.57 hours after the commencent of immunisation).

Autopsy. — The bone-marrow has approximately the same appearance as in rabbit 368; its consistence is perhaps slightly firmer.

Microscopic Study.—The appearance is approximately the same as the one described in rabbit 368; slight congestion, inconspicuous œdema of reticulum, fat-cells with normal volume, disorder in the arrangement of the parenchyma-cells and abundance of polymorphonuclear leucocytes, grouping of these cells round the fat-cells; the latter have a well-preserved nucleus and some of them are entirely covered by polymorphonuclear leucocytes which appear to their surface (chimiotaxis) (Fig. 15, Plate 17).

The elements of the haemoglobin-containing class of cells are in this case more abundant than in rabbit 368.

At the end of the first four hours of immunisation, the bone-marrow of rabbits 368 and 369 show a slight congestion, inconspicuous oedema of reticulum and a disorder in the arrangement of the parenchyma cells, which are less numerous than under normal conditions, and above all an intense transformation of myelocytes into polymorphonuclear leucocytes. The latter cells arrange themselves like a halo round some of the fat-cells; at other times a greater number of them make up a focus round a fat-cell. The aspects indicated would suggest a marked chemitaxis of the fat cells for polymorphonuclear leucocytes in this initial stage.

17 hours of immunisation.

Rabbit 210—Weight 1 300 grs.

Inoculated on April 7 th 1920 in marginal vein of ear with 1 cc. of a sterilised emulsion of *B. paratyphi A.* (Emulsion A).

Died during the night before 9 a. m. on April 8 th 1920.

Autopsy—The bone-marrow (femur) has a light red colour, a shining surface and a normal consitance.

Histologic Study.—Under a weak power the section shows on a background stained by eosin a more or less uniform rose colour small circular light areas, which correspond to fat-cells; the parenchyma cells are considerably redu-

ced in number (aplasia). The capillaries are enormously dilated and full of red blood corpuscles but in a discontinuous way.

Under a strong power the scarceness, resembling disappearance of the polymorphonuclear leucocytes is made evident.

The myelocytes, which are considerably less numerous than in normal bone-marrow show pronounced regressive changes; the nucleus of many is pyknotic.

Some myelocytes make up isolated groups of 3 or 4 amphophil myelocytes; these are small foci of multiplication of myelocytes. These groups are rarely seen. The regressive changes of the myelocytes are prevalent.

A relative abundance of small cells with the appearance of lymphocytes may be noticed.

Some fat-cells have their normal dimensions; almost all, however, are reduced in volume; the nucleus is swollen and its finer structure more evident than usual, being readily stained by hæmatoxylin. In the protoplasm appears a zone where the structure is clearly reticular. This zone is found immediately round the nucleus, which occupies a much more central position than in fat-cells from normal bone-marrow.

The megalocaryocytes found are the seat of pronounced regressive changes (plasma more or less intensely stained by eosin, nucleus in frank caryolysis).

Round the degenerating megalocaryocytes are found frequently cells with the appearance of lymphocytes, but not plentifully; in the protoplasm of the megalocaryocytes, remains of phagocyted cells.

In the bone-marrow of rabbit 210 which died not quite 17 hours after the commencement of immunisation, the lesions are as follows:

Lesions of the vessels: *pronounced congestion of blood spaces.*

Lesions of reticulum: *pronounced œdema.*

Lesions of parenchyma cells:

1) pronounced reduction in number of bone-marrowcells (aplasia).

2) almost entire disappearance of polymorphonuclear leucocytes.

3) pronounced regressive changes in myelocytes and megalocaryocytes.

4) reproduction of amphophil myelocytes which constitute little groups of 3-4 cells; these foci are sparse and relatively rare.

5) reduction in number of the fat-cells, which show a nucleus with the finer structural details clearer than under normal conditions. This nucleus is displaced towards the centre of the cells and the protoplasm around it has a very evident reticular structure.

6) relative abundance of cells morphologically identical to lymphocytes (diffuse infiltration of lymphocytes).

24 hours of immunisation.

Rabbit 212—Weight 1 300 grs.

Inoculated on April 7th 1920 at 3.30 p. m. in marginal vein of ear with 1 cc. of a killed emulsion of *B. paratyphi A.* (Emulsion A). Died after 9.00 a. m. on April 8 th 1920. Autopsied before 1.00 p. m.

Autopsy.— The bone-marrow is of a dark red colour; small points of a darker red may be seen in it.

Its consistence is slightly diminished. The surface is shiny.

The central vein is voluminous, turgid, looking like a cord of red colour, easily separated from the parenchyma of the bone-marrow.

Histologic Study.—Under a weak power the bone-marrow shows an evident reduction in the number of the parenchyma cells (Fig. 3, Plate 19).

The reticulum is the seat of a pronounced, generalised œdema (Fig. 4, Plate 19).

The capillaries are dilated and filled with red blood corpuscles (Fig. 3, Plate 19) between which normoblasts,

a few rare myelocytes and leucocytes may also be seen.

Under a strong power the study of the parenchyma revealed the following facts:

Great scarcety, or almost complete disappearance of the polymorphonuclear leucocytes is to be seen.

Cells with the appearance of lymphocytes are particularly abundant (Fig. 4, Plate 19); these cells, appear isolated and never form groups of more than 2-3 cells.

Besides the lymphocytes, which, in certain fields appear to be the dominating element, myelocytes are to be seen.

Some myelocytes show a nucleus well-stained by haematoxylin, very often apparently two-lobed.

Some myelocytes possess two circular nuclei of unequal size; agglomerations of 4 and more cells are not rare; each cell shows, then, a two-lobed nucleus or possesses two spheric nuclei always of unequal size (forms of division of the myelocytes).

Besides the above described myelocytes other not uncommon ones show different lesions. In some, the nucleus appears frankly stained, in a diffuse way, like the shadowing of a normal nucleus (caryolysis); in others, the nucleus is reduced to a black-coloured condensed mass, or to small spheric masses (3-5) of unequal size, strongly stained *(caryorrhexis* and *pycnosis)*.

The volume of almost all the fat-cells is reduced as compared with a fat-cell of normal bone-marrow (Fig. 3, Plate 68).

The nucleus occupies a very much more central position than it would in a normal fat-cell (Fig. 4, Plate 63); it is never perfectly central but always slightly excentric also more voluminous than in normal fat-cells, ovoid in shape, and poor in chromatin. It occupies a zone of protoplasm with a reticular structure. In the meshes of the reticulum, round the nucleus, are seen little vacuoles. In the peripheric part of the protoplasm the vacuoles are bigger. separated by fine septa from the reticulum.

In the immediate neighbourhood of the fat-cell a substance of uniformly rose colour is seen in preparations stained by hæmatoxylin-eosin (fluid transudate of œdema).

It is not possible to find a megalocaryocyte with a normal appearance; these cells are reduced in number and have different appearances.

In one case, the volume is approximately that of a normal megalocaryocyte. The nucleus shows the characteristic configuration. It stains, however, very little by hæmatoxylin, looking like a shadow of dark blue colour, bigger than a normal nucleus; no fine details of structure are seen, in it, the mass having on the contrary, a homogeneous and uniform appearance.

The protoplasm is made up of minute, densely grouped granulations, of uniform, size, frankly coloured rose-red by the hæmatoxylin-eosin and pale blue by GIEMSA's fluid process.

In another, aspect, the volume of the cell is enormously reduced. sometimes to one half the normal size. The megalocaryocyte has in this case the dimensions of a myelocyte (Fig. 5, Plate 19).

The nucleus appears as a condensed mass, strongly stained in very deep blue; it does not show fine structural details.

The granular protoplasm forms round the condensed nucleus a more or less narrow zone; it shows the granular structure described above.

The lesions of the bone-marrow 24 hours after the commencement of immunisation are, therefore:

1) aplasia (reduction of the number of cells).

2) relative abundance of cells with the morphology of lymphocytes which

are either found in the interior of the blood spaces or else are in the reticulum where they appear as isolated elements.

3) reduction in number, almost absence, of polymorphonuclear leucocytes.

4) regressive changes in the myelocytes, megalocaryocytes and fat-cells.

5) proliferation of myelocytes, with not infrequent disseminated foci, made up of 4 or more of these cells.

Probable interpretations.

The lesions seen in the bone-marrow of rabbits 210 and 212, which died respectively 17 and 20 hours after the beginning of immunisation, are of the same nature.

Small variations of intensity of the lesion, only, are to be seen.

Thus in rabbit 210, the œdema of the reticulum is more accentuated than in 212. In rabbit 212 the cells with the appearance of lymphocytes are still more numerous and diffusely distributed than in rabbit 210.

These lesions are probably due to the following:

The conspicuous reduction in leucocytes is to be explained, naturally by the leucocytosis observed in this phase of immunisation.

The multiplication or regeneration of the myelocytes is due to this same leucocytosis.

The congestion of the capillaries and œdema of the reticulum are directly dependant on the introduction into the circulation of the antigen (dead bacteria), certainly bringing with it toxins (endotoxins). The congestion must precede the œdema which is only the consequence of an intense and lasting congestion. We had, besides, the opportunity to see the ease with which, in various pathological conditions, the œdema of the reticulum of the bone-marrow produces itself, and which is explained by the special structure of the capillaries of the bone-marrow.

As to the regressive changes seen in the myelocytes, megalocaryocytes and fat-cells, I think that the vascular lesions (œdema and congestion), bringing with them modifications in the cellular metabolism, are in themselves sufficient explanation; it is not possible, however, to exclude even here an action of the antigen.

The explanation of the abundance of cells with the morphology of lymphocytes offers some difficulty; the same fact had already been observed by SELLING in the regeneration of bone-marrow after benzol intoxication; it is most probable that it should be a case of emigration of these cells from capillaries of the bone-marrow where they are also to be seen in the sections (Fig. 4, Plate 19).

36 hours of immunisation.

Rabbit 213—Weight 1.300 grs.

Inoculated in marginal vein of the ear with 1 cc. of a killed emulsion of *B. paratyphi A.* (Emulsion A) at 3.30 p. m. on April 7 th 1920.

Died after 9.00 a. m. on April 8 th 1920. Autopsied at 1.00 p. m. on same day.

Autopsy—The bone-marrow has a lightred colour. The consistence is diminished, the organ is easily dilacerated, leaving pieces sticking to the bone when the rest is removed. The central vessels are not very conspicuous.

Histologic Study—The lesions of the bone-marrow of rabbit 213, died at the 36th hour of immunisation, are of the same kind as those seen in rabbit 212.

The differences are:

1) The congestion is less pronounced.

2) The proliferation of myelocytes is more pronounced, figures of indirect division are frequent.

3) Cells with pigment are found in greater number.

2nd Day of immunisation.

Rabbit 214—Weight 1 300 grs.

On April 7 th 1920 at 3.30 p. m., inoculated in the

marginal vein of ear with 1 cc. of a emulsion *B. paratyphi A.* (mulsion A).

Killed on April 9 the 1920 at noon (46.30 hrs after inoculation).

Autopsy was made immediately.

Autopsy—The general colour of bone-marrow (femur) was red. The surface brilliant. The consistence normal.

Histologic Study—Sections of material fixed in ZENKER-formalin, stained by hæmatoxylin-eosin and fluid GIEMSA.

Under a weak power a pronounced congestion of the small vessels (capillaries), œdema of the reticulum and reduction in volume and number of the fat-cells.

The parenchyma appears to be poorer in cells than the normal; this is not, however, marked.

Areas of necrosis are not to be seen.

Rabbit 409—Weight 1 130 grs.

May 5 th 1921—(2.00 p. m.) Leucocytes=10 550 per mm³ (11 600—11 200—10 000—9 400).

May 6 th 1921—(1.15 p. m.) Leucocytes=12 800 per mm³ (14 800—13 400—11 800—11 200).

May 6 th 1921—At 1.45 p. m. inoculated subcutaneously with 1 loopful (2 milligramms) of a culture in gelose of *B. paratyphi A.* in suspension in saline solution and sterilised by heating in a water bath at 65°C for an hour.

May 16 th 1921—Killed, at 4 00 p. m. by violent narcosis (chloroform).

One description alone will suffice for these three rabbits, so similar are the lesions found.

The only difference is that cells with pigment are found only with difficulty in rabbits 405 and 408 whereas they are not uncommon in 409.

Histologic Study—Under a weak power the fat-cells are seen to be reduced in size and the parts of the reticulum which surround them are strongly stained by eosin. In preparations by MALLORY's process (anilin blue) these parts are uniformly coloured orange red, giving the appearance of hyaline substance, whereas the remainder of the reticum stains blue (œdema fluid).

The parenchyma cells are practically as numerous as in normal bone-marrow.

A really evident feature of this bone-marrow, which agrees with BUNTING and SELLING's descriptions of the regenerations of the bone-marrow, is the existence of myelocytes in small islets of 3, 4, 6 or 10 and more cells, side by side with other different groups of hæmoglobin-containing cells (groups in which there is regeneration of cells of the myeloid class and erythrogenetic groups).

The polymorphonuclear leucocytes are also abundant and the megalocaryocytes are well preserved.

Ocasionally discrete areas with capillary congestion are seen.

The aspect of these lesions is not uniform; in some places the œdema of the reticulum is more pronounced and the fat-cells are less voluminous; the parenchyma cells, although less numerous, show a disposition in distinct groups of cells of the myeloid series and erythrogenetic cells.

The bone-marrow of the 10th day of immunisation shows an intense regeneration of the parenchyma cells, of the ccells the myeloid series as of the hæmoglobin-containing cells; the former more numerous, however, than the latter.

The congestion of the capillaries exists only in rare places and the œdema of the reticulum is already being reabsorbed; in the immediate neighbourhood of the fat-cells is found a homogeneous substance, staining itself in orange red by MALLORY's method (anilin blue) and staining strongly with eosin (hyaline substance?).

14th Day of immunisation.

Rabbit 133 A—Weight 1 750 grs.

Jan. 19 th 1920—Leucocytes=13 290 per mm³.

Jan. 20 th 1920—Leucocytes (4 00 p. m.); 6 600 per mm³. Intraperitoneal inoculation (4 20 p. m.) of 1,5 cc. of a mixture of 2 cc. of saline solution with 1 cc. of 24 hours broth culture of *B. paratyphi A.*

Jan. 21 rst 1920 – Leucocytes (2.00 p. m.)=18 800 per mm³.

Jan. 22 nd 1920 – Leucocytes (12.30 p. m.)=11 80$_0$ per mm³.

Jan. 24 rd 1920 – Inoculated peritoneally (1.30 p. m.) with 3 cc. of saline solution with 2 loopfuls of a 24 hours culture on gelose of *B. paratyphi A.*

Feb. 3 rd 1920 – Leucocytes (11.00 a. m.)=13 000. Killed at 1.30 p. m.

Histological Study—Under a small power the bone-marrow is seen to be richer in cells than the normal organ. The clear spaces that correspond in the latter to fat-cells are in our case unrecognisable; in their place numerous parenchyma cells diffusedly disseminated are to be seen.

The blood-capillaries are not dilated and can be recognised without difficulty (under a weak power) between the numerous parenchyma-cells.

Under a strong power one observes that the most numerous cells are myelocytes and polymorphonuclear leucocytes; it is quite common to see foci of myelocytes and round the margins of these numerous polymorphonuclear leucocytes. Amongst these, it is easy to find megalocaryocytes, almost all of them with 1 or 2 phagocyted leucocytes in their plasma; cells of the hæmoglobin-containing series are also found.

The most remarkable fact, however, of this bone-marrow in marked hyperplasia is the existence of foci of proliferation of the reticulum cells, which form structures at first sight similar to lymphoid follicles (Fig. 17, Plate 17).

The foci are fairly conspicuous, even under a weak power, on account of the absence of granulocytes in them; they are made up of big cells with a nucleus round or oval, poor in chromatin, showing 1, to 3 nucleoli, protoplasma slightly basophil (reticulum cells); staining by anilin blue (MALLORY) shows that these do not contain any connective tissue fibrils; in certain favourable fields one sees that the protoplasm of these cells has fine, strands of protoplasm which go out towards similar ones from other cells. These cells have phagocytic activity; their protoplasm sometimes holds desintegrating granular leucocytes, round granules stained by eosin and sometimes light yellow pigment. In the foci, there occur other cells amongst these; they have a round nucleus, with abundant chromatin and a protoplasm without granulations; some have the morphology of lymphocytes.

When the focus becomes larger, the big cells occupy the central part, imitating the germ centre of a lymphoid follicle with its lymphoblasts; the non-granular mononuclear cells and and lymphocytes, becoming more numerous, occupy the marginal zone; the appearance reminds one of a lymphoid follicle (see Fig. 17, Plate 17).

The knowledge we have of the reticulum cells of hæmatopoietic organs is not yet definite. Some authorities, like DOWNEY and WEIDENREICH, admit the formation of mononuclear leucocytes and lymphocytes at the cost of the reticulum of lymphoid organs.

I do not wish to assert in a categoric way that the foci I described are lymphoid organs; that would be the subject of another research. What I should like to state clearly, is the difference between these foci, which are perhaps lymphoid follicles, and the foci of proliferation of connective tissue cells (fibrosis) which were met at every moment in this series of rabbits from the 6th day on, and that indicate small hæmorrhagic centres under way of organisation.

ASKANAZY thinks that under normal conditions the bone-marrow of children contains lymphoid follicles, which SCHRIDDE denies, assuming that this can happen only under pathological conditions. The lymphoid follicles indicated by ASKANAZY showed no germ-centres.

If in this rabbit, these should be real lymphoid follicles, which I think

very probable, this fact would have a special interest, since it would show the possibility of lymphoid follicles with a quite evident germ-centre occurring in the bone-marrow (Fig. 17, Plate 17).

In normal rabbits only occasionally did I find lymphocytes, which were always isolated. The existence of lymphoid follicles in the bone-marrow of the adult rabbit is, according to me, a pathological condition. Might not the expression of «*lymphoid metaplasia*» in this case be not altogether unsuitable.

IV—Conclusions.

It is quite common to observe histopathological lesions of the bonemarrow of apparently healthy rabbits; of these, however, the number of leucocytes is almost always abnormal. SELLING's recommendation, i. e. to observe during a period of 3 consecutive days the number of leucocytes and exclude the rabbits that, during this time show considerable daily variations or an abnormal number, proved very useful.

I carried out a histopathological study on the bone-marrow of 40 rabbits immunised for the obtention of agglutinins *(B. paratyphi A.)*

I ascertained the existence of lesions succeeding each other with great regularity; this process can be divided according to its morphological characters into the following phases:

4 hours of immunisation.

Slight congestion, inconspicuous œdema of reticulum and a modification (disorder) in the normal arrangement of the parenchyma cells which are less numerous than under ordinary conditions and above all an intense transformation of myelocytes into polymorphonuclear leucocytes. These polymorphonuclear leucocytes, dispose themselves after the fashion of a crown round some fat-cells and make up a little focus round one of them (s. Figs. 11 and 15, Plate 17). The aspects observed show a pronounced chemotaxis of the fat-cells for the polymorphonuclear leucocytes.

17 to 36 hours.

Marked congestion and pronounced œdema of reticulum (s. Fig. 3, Plate 19). Considerable reduction in the number of parenchyma cells (aplasia) (s. Figs. 3 and 4, Plate 19), with almost complete disappearance of the polymorphonuclear leucocytes. Pronounced regressive changes in the myelocytes and megalocaryocytes (Fig. 5, Plate 19). Multiplication of amphophil myelocytes, in its first stages, constituing little foci of 3-4 discrete and rare cells.

Reduction in volume of fat-cells (v. Plate 19, Fig. 3), whose nucleus showing the fine structural details, is slightly tumefied and displaced towards the centre of the cell (v. Plate 19, Fig. 4); the protoplasm all around has a clearly reticular structure. Finally, a diffuse infiltration of leucocytes (v. Plate 19, Fig., 4).

2nd Day.

There is persistance of the congestion, œdema of reticulum, and diffuse infiltration of leucocytes, also regeneration of the polymorphonuclear leucocytes and perhaps a slight excess of them. Reconstitution of the fat-contents of the fat-cells.

3rd Day.

The resorption of the œdema of the reticulum begins. The congestion of capillaries persists (Plate 21, Fig. 9). The parenchyma cells, as abundant as in the normal state, are chiefly myelocytes, disposed in small foci of 2, 4 or more cells (Plate 20, Fig, 6) and polymorphonuclear leucocytes. There begin to appear foci of regeneration of the hæmo-

globin cells (perivascular foci of erythroblasts (normoblasts) (v. Plate 21, Fig. 11).

The reconstitution of the fat-contents of the fat-cells continues (v. Plate 21, Figs. 9, 10 and 11). The lymphocytes become rarer, the character of a diffuse infiltration which they showed disappears; megalocaryocytes in pronounced phagocytic activity. Discrete hyperplasia of the fixed connective tissue cells (fibrosis) (v. Plate 20, Fig. 8).

5th, 6th and 7th Days.

The congestion of the capillaries shows a tendency to disappear and the œdema of the reticulum is becoming reabsorbed. Hyperplasia or intense proliferation of myelocytes, grouped round the vessels in a conspicuous manner (Plate 22, Fig. 13 and Plate 17, Fig. 16); active evolution of myelocytes into polymorphonuclear leucocytes, with individual variations with regard to the numerical predominance of one kind of cell over the other. Fat-cells reduced in volume; some of them, however, have already reacquired their original dimensions (Plate 22, Fig. 12); others are hidden by the myelocytes in hyperplasia (v. Plate 17, Fig. 16). Numerous small foci of fibrosis (proliferation of connective tissue cells) probably representing the organisation of small hæmorrhagic foci (v. Plate 20, Fig. 7).

7th Day.

Capillary congestion only in a few points, œdema of reticulum has already undergone resorption; round the fat-cells there has deposited itself a substance with the caracters of hyaline substance. Parenchyma with an active regeneration of cells, not only of the more numerous cells of the myeloid series, but also of the hæmoglobin-containing elements.

14th Day.

Bone-marrow in marked hyperplasia, the most numerous cells being myelocytes and polymorphonuclear leucocytes. Owing to the hyperplasia of the cells of the myeloid series, the fat-cells are not conspicuous. A specially interesting fact is the existence of foci with the structure of lymphoid follicles and possessing a germ-centre (v. Plate 17, Fig. 17). Megalocaryocytes with pronounced phagocytic activity.

Condensing the facts, we may say that in the course of immunisation for the obtention of agglutinins, the bone-marrow undergoes, right in the first hours, a marked reduction in the number of its cells, with intense congestion and œdema of reticulum and regressive alterations in the parenchyma-cells. A remarkable fact is the subsequent loss of the fat-contents of fat-cells, preceded by the disposition of polymorphonuclear leucocytes round them like a crown. The reduction in volume of the fat-cells appears to be frequent in different pathological states of the bone-marrow, but the chemotaxis of polymorphonuclear leucocytes for the fat-cell had not yet been described and only subsequent research wil show whether it is a lesion peculiar to bone-marrow or not.

After this initial period, there is gradual regeneration of the different cells; before this the bone-marrow is the seat of an infiltration by cells with all the characters of blood-lymphocytes; this invasion precedes the phase of regeneration of the myelocytes and cells of the hæmoglobin-containing series and this curious observations might be of great theoretic importance.

The fat-contents of fat-cells are gradually rebuilt.

Later on, on the 6th day of immunisation, the most noticeable histologic alteration is an intense hyperplasia of the parenchyma-cells; mitotic figures of di-

vision of the myelocytes are to be seen in great abundance. This hyperplasia becomes marked on the 10th and 14th days; the fat-cells are then hidden by the parenchyma-cells. At the same time there is a regeneration, on a smaller scale of the cells of the hæmoglobin containing series. At this time, a fact of general interest is the appearance of formations morphologically similar to lymphoid follicles with a germ-centre.

It is interesting to compare the curve of agglutinin-production with the lesions in the bone-marrow. This curve attains its maximum on the 6th 8th days of immunisation (TSUKAHARA), coinciding thus with a marked hyperplasia of the cells of the myeloid series and with the regeneration of the fat-contents of the fat-cells of the bone-marrow.

Doubtlessly the lesions I observed are closely connected with the well-known modifications of the blood in immunisation.

I think that the action of the antigen, leucocytosis and the production of antibodies are facts closely connected among themselves and that all of them concur towards producing the lesions of the bone-marrow seen during immunisation.

This is not a gratuitous supposition since HEKTOEN's experiments have shown the «leucocytogenic-centres» to take part in the elaboration of antibodies and TISCORNIA, employing a special technic isolated from the leucocytes of immunised animals substances with immunising properties.

Taking into account recent immunologic research and experiments with physical agents such as X-rays, radium and thorium X, all of which tend to point out the bone-marrow as seat of production of some antibodies (agglutinins), we may conclude that the morphological descriptions submitted in this work confirm this point of view.

Explanation of Figures.

Figs. 1 to 13, Plates 18 to 22, are microphotographs of microscopc sections of rabbit bone-marrow stained with hæmatoxylin-eosin.

Figs. 14 and 15, Plate 17, are drawings from microscopic sections of bone-marrow stained with hæmatoxylin-eosin and drawn with ZEISS' Comp. Oc. 4 and Homog. Imm. Obj. 1/12; Fig. 16 is drawn with ZEISS' Oc. 2 and Homog. Imm. 1/12. Fig. 17, Plate 17, is drawn from a section of bone-marrow stained by GIEMSA's fluid process and examined with ZEISS' Comp. Oc. 6 ZEISS Obj. DD.

Plate 17.

Fig. 1 — Bone-marrow at the 4th hour of immunisation (rabbit 369).

Leucocytes placed round fat-cells like a halo (chemotaxis of the fat-cell for leucocytes).

Fig. 2 — Bone-marrow at the 4th hour of immunisation (rabbit 369).

Leucocytes grouped round fat-cell are more numerous than in Fig. 14, and cover the fat-cells.

Fig. 3 — Bone-marrow at the end of the 7th day of immunisation (rabbit 218); showing an active proliferation of myelocytes.

Observe the predomination of this kind of cell over the other parenchyma-cells and its grouping round the blood-vessels. Capillaries dilated, slightly less so than in the first days of immunisation. Some fat-cells are approximatively normally-sized *(a);* others are hidden by groups of myelocytes giving at first sight the impression that they had been invaded by myelocytes *(b.)*

Fig. 4 — Bone-marrow at the end of the 14th day of immunisation (rabbit 133-A).

Cell-focus that must be identified with a lymphoid follicle with its germ-centre.

The central part (germ-centre) is occupied by big cells of a basophil cytoplasm, oval nucleus with little chromatin and with 1—2 nucleoli *(reticulum-cells).*

Peripherically there are numerous cells with the morphology of lymphocytes, among which are to be observed also cells of the marrow-parenchyma (myelocytes and leucocytes).

In these cell-foci erythroblasts are not seen.

Plate 18.

Fig. 1 — Normal rabbit bone-marrow (seen under a weak power).

The clear spaces correspond to fat-cells; between the latter are arranged the parenchyma-cells. Blood-vessels are not in evidence.

Fig. 2 — Normal rabbit bone-marrow (seen under a strong power).

Plate 19.

Fig. 3—Bone-marrow after 24 hours of immunisation (rabbit 212).

Pronounced congestion and œdema of reticulum (as compared with with Fig. 1, Plate 18). Reduction in number of parenchyma-cells (aplasia). Fat-cells reduced in volume.

Fig. 4 — Bone-marrow after 24 hours of immunisation (rabbit 212).

(To be contrasted with Fig. 2, Plate 18).

Reduction in number of parenchyma-cells (aplasia). Abundance of cells with the morphology of lymphocytes. Congestion and œdema of reticulum. Lesions of fat-cells (cf. text).

Fig. 5—Bone-marrow after 24 hours of immunisation (rabbit 212).
Megalocaryocytes with regressive changes (cf. text).

Plate 20.

Fig. 8—Bone-marrow at the end the 3rd day of immunisation (rabbit 215).
Intense proliferation of myelocytes, forming small groups of 3 or 4 cells. Diffuse infiltration of lymphocytes. Complete disappearance of fat-contents of fat-cells.

Fig. 9 — Bone-marrow at the end of the 3rd day of immunisation (rabbit 216.)
Foci of polymorphonuclear leucocytes; many of them superposed on one point show a pyknotic nucleus and other ones are in complete desintegration (a small infarct).

Fig. 10—Bone-marrow at the end of the 3rd day of immunisation (rabbit 216).
Increase in number of fixed connective tissue cells which which are seen 10-15 at a time placed side by side and in rows.

Plate 21.

Fig. 9 — Bone-marrow at the end of the 3rd day of immunisation (rabbit 150).
Marked congestion (compare with Fig, 1, Plate 18). Parenchyma-cells, although less numerous than in normal marrow, are more numerous than in the first 24 hours of immunisation. (compare with Fig. 3, Plate 19).

Fig. 10—Bone-marrow at the end of the 3rd day of immunisation (rabbit 150).
Foci of regeneration of hæmoglobin-containing elements [perivascular foci of erythroblasts (normoblasts)].

Fig. 11 — The same section as in figure 9 seen under a higher power.
The most abundant parenchyma-cells are myelocytes.

Plate 22.

Fig. 12 — Bone-marrow at the end of the 5th day of immunisation (rabbit 367).
Hyperplasia of parenchyma-cells, of which the most numerous are polymorphonuclear leucocytes. In the fat-cells can be observed regeneration of fat-contents. Oedema of reticulum largely reabsorbed.

Fig. 13 — Bone-marrow at the end of the 7th day of immunisation (rabbit 218).
Pronounced congestion and grouping of parenchyma-cells round blood-vessels.

On the loss of acid-fastness and granular disaggregation in Bacillus tuberculosis of old cultures

by

DR. A. FONTES.

Head of Department.

The observation of cultures of B. tuberculosis in liquid culture media shows that, as the cultures get older, the microbes deposit themselves at the bottom of the flask in which the culture has been carried out.

Seen under the microscope these microbes appear altered, looking more granular than in cultures under favourable conditions of development; numerous free granulations permit one to suppose that there is a microbic autolysis in the culture medium.

This phenomenon, which is constant allows of different interpretations:

1º) — Are the bodies of microbes affected by cadaveric autolysis?

2º) — Are the bodies of microbes affected by ferments elaborated in vivo by the microbes?

3º) — Are the bodies of microbes affected by a chemical non fermentative action of substances that had been produced by the virus?

4º) — Does the chemical composition of culture medium exert a manifest action on this phenomenon of pseudo-autolysis?

5º)—Are the morphological changes and the consequent granular disaggregation connected with the conditions of vitality of the virus?

1º) — Cadaveric autolysis is a general phenomenon which, considered as a consequence of the fermentative action intimately connected with the physical state of organised living matter, has been studied isolated from external factors which might be looked upon as its cause.

The aseptic autolysis of organs has shown that the ferments of the living, as well as of the dead body, reproduce within the cell the dynamic aspects of matter produced by bio-chemical energy.

In the case of bacterian elements, however, observation tends to show that in the absence of foreign causes the phenomenon of autolysis is exceedingly slow.

The observation of cultures left in the incubator or even under ordinary conditions and *kept uncontaminated* shows that, although altered in form, sometimes even to the extent of becoming

unrecognisable, the germs still take anilin dyes; this indicates that the disaggregation of organised matter, if begun at all, was not completed.

What is observed in a general way with the ordinary run of bacteria is still more evident in the case of KOCH's bacillus.

The cultures on solid media of B. tuberculosis, even when died out in the course of time, show under microscopic observation the greater part of the microbes intact, sometimes with forms of involution, more granular than in prospering colonies, but always individually recognisable. Side by side with these, free granulations are found in much greater numbers than in developing cultures.

In ancient cultures in liquid media the granular disaggregation and the alteration of the germs are still more noticeable.

This cannot, however, be considered to be a complete lysis of the microbian body since the cultures are always recognisable by their shape even cultures of more than two years of age.

Alteration in the form of the bacilli and a setting-free of the granulations may be verified but the dilution and disappearance of the proteic substances which make up the body of the granulation cannot be observed in a positive way.

Long experience allows me to conclude that «*in the absence of foreign causes intervening the granulations of the Bacillus tuberculosis are not dissolved by cadaveric autolysis*».

2o—The research for ferments elaborated by cultures of B. tuberculosis have been almost entirely fruitless.

BAUDRAN (1) ascertained the existence of an anaeroxydasis, the existence of which could be revealed by guaiac solution operating with absolute alcohol on live bacilli.

CARRIÉRE (2) found a lipasis similar to or identical with the lipasis studied by HENRIOT and recognisable by its decomposition of monobutyrin.

The researches which I carried out in 1911 [FONTES (3)] using the technic of MALFITENO (4) were entirely negative as to the existence of proteolytic ferments, zymases or oxydases.

And, in reality, experiments agree with what is observed in aged cultures. If the ageing of the cultures renders the granulations more abundant this observation supports the view that there are no ferments to digest them. Nor can the disaggregation of the granulations or the modification of the bacilli in cultures be admitted as the action of the lipasis found by CARRIÉRE.

The production of lipasis being a vital act, the ferment should exert its action in vivo, and in that case the germs would not keep their morphological integrity in the lesions.

Now, it is known that only the action of a specific cellular lipasis is able to modify the morphology of the bacillus [FONTES (5)] [FIESSINGER and MARIE (6)].

Another argument is drawn from the following fact. In the most flourishing period of development of the culture the acme of vitality is represented, in culture broths, by the greatest richess in products elaborated by the germs, and yet at this time the bacillary bodies show a good constitution and dispersed granulations are relatively scaree.

«*The contrary should take place if this disaggregation depended on a ferment elaborated by the microbe*».

3o—The third hypothesis in a measure casts light on the phenomenon in question.

The chemical composition of the tubercle bacillus indicates an abundance of higher alcohols, non-saturated fatty acids and several phosphatides.

In vitro, cleaving and even lytic ac-

tion of some of these substances can be demonstrated.

Cholesterin, lecithin and the quaternary ammoniacal bases are substances, which, when under special conditions mixed with cultures of B. tuberculosis exert a dissolving influence on the bodies of the microbes.

The observations of DEYCKE and MUCH (7) on this subject have been unanimously confirmed by posterior research. Thus in tuberculosis cultures the freeing of these principles which do diffuse, although slowly, in liquid media, would permit of the dissolving of the microbian lipoids and a consequent dispersing of the granules. It is, in fact, a general property of lipoids to dissol each other mutually [IVAR BANG (8)].

The phosphatides have this property accentuated and the non-saturated fatty acids as well as their soluble soaps are very active.

Although the actual tendency is rather to approach these reactions to the reactions of soluble ferments, we should rather consider them as chemical non-fermentative saponification or hydrolysis reactions since they are accelerated by a raising of the temperature incompatible with fermentative activity.

Is is what one must conclude from the action of ox-bile and of several of the lipoids from cod-liver oil which exert a disaggregating and somewhat lytic influence on tubercle bacilli at temperatures of approximately 100°C.

Therefore «*the chemical composition of the tubercle bacillis, its richness in higher alcohols, fats and phosphatides and the diffusion of these lipoids in the culture media explain the morphologic modification of the bacilli and the freeing of the granulations quite independently of any fermentative activity.*

4o—Tubercle cultures depelop on culture media of the most different origin and most varied chemical composition.

Media of animal origin, vegetable media or even media of definite chemical composition permit the development of cultures in which the bacilli keep their principal characters: acid-fastness and granular structure.

This does not mean that modification in form and structure of the bacilli may not be obtained when the chemical composition of the culture medium alters the biological conditions of the germ, as happens in media with considerable quantities of glycerin or those to which lipoids of different origins have been added. But in these cases the cultures which develop, considerably modified in their biological conditions cannot be considered normal.But even so, in some of them, as in homogenous cultures when the perturbing cause ceases to act on the normal development of the culture, it returns to the original type revealing the microbes with their specific characters.

In homogeneous cultures the abandoning of the cultures and the ceasing of daily shaking allows of the formation of a skin composed of bacilli which reacquire their acid-fastness and granular structure.

The change in reaction of the culture medium, which, in cultures of the bovine type, is, according to the observations of TH. SMITH (9), correlated with the term of development of the culture, does not exert any appreciable action on the phenomenon studied, since week old cultures in full maturity and having suffered twice an inversion of the chemical reaction of the medium show the microbes in perfect state of structural integrity.

Thus «*when a tubercle culture in placed under normal conditions of development neither the chemical composition of the culture medium nor a modification of the reaction appear to exert an influence in the production of a modification in the morphology of the ba-*

cillus and in the disaggregation of the granules».

5o—From the study of cultures of tubercle bacilli in artificial culture media it is very difficult to conclude wheter the modification in the morphology of the bacilli and the granular disaggregation depend exclusively on the conditions of vitality of the virus.

And, in fact, even in the homogeneous cultures, in which the greatest modifications in form and virulence of the tubercle bacillus are seen, the development of the culture is made easier by successive transplanting. Yet under normal conditions of development in artificial media, the ageing of cultures causes the appearance of a greater number of modified forms than is found in vigourous colonies.

And, what should be remarked is that however great the age, provided the culture remain alive, even if there should be a certain attenuation of the virus, it does not lose its infective power.

From the observation of tuberculous infection, however, it is clear that the morphological variation of the virus obey, to a certain extent, the resistance of the organism in which it develops.

In chronic pulmonary tuberculosis the granular form is more frequently observed than in cases of acute and sub-acute evolution and this is more easily verified in old cases of cavitary tuberculosis.

The finding of the granular form in cases of lupus, the variety of acid-fast forms in these lesions, are facts that agree in indicating a certain connection between cause and effect: they allow one to presume that the granular form is the form of resistance of the virus representing its residual infective form.

Acid fastness is a character acquired with the cycle of evolution of the germ. In recent as in old cultures this character may fail without their ceasing, for this reason, to be infectious.

Granulations are always found in these cultures. If, by any chance, in recent cultures the granulations should have a less condensed structur this appears to be connected with the bacillary reproduction and production of smaller granulations deriving from the others.

The study of the bacillus' cytology shows that the granulation has an essential function in reproduction. [FONTES (1)]. Now the granulation being the origin of the bacillary body, its being eliminated from the body of the microbe to form new centers of development of cultures, its not being destroyed by the ordinary causes of destruction appearing in culture media, such as exhaustion of the medium, action of ferments elaborated by the culture, modification of physico-chemical conditions of culture medium, one may logically admit that *«the increasing and freeing of the granulations of bacilli in aged cultures represents the effort of resistance the virus opposes to the causes that interfere with its vitality».*

Studien ueber Meeresprotozoen

von

Drs. Gomes de Faria, A. M. da Cunha und Cesar Pinto,

(Taf. 23—25.)

Einleitung.

Die erste Arbeit ueber Suesswasser-Protozoen Brasiliens ist 1841 erschienen, und wir verdanken sie EHRENBERG, der die drei folgenden Arten aufgestellt hat: *Centropyxis aculeata, Euglypha alveolata* e *Trinema enchelys*.

DADAY beschrieb 1905 zwei neue Arten von Suesswasser-Protozoen, aus dem Staat Matto Grosso.

1910 studierte S. VON PROWAZEK einundneunzig Arten, die in der Naehe des Instituts Oswaldo Cruz (Manguinhos) und in einigen Orten des Staates S. Paulo zu finden waren.

1909 bis 1910 haben ARAGÃO, HARTMANN und CHAGAS neue Arten beschrieben, und die Cytologie von Suesswasser-Rhizopoden und von Flagellaten aus Rio de Janeiro studiert.

Im Jahre 1912 wurden von WAILES achtunddreissig freilebende Protozoen festgestellt.

1913 klassifizierte A. M. DA CUNHA zweihundertundzwanzig Arten, von denen zwoelf noch nicht beschrieben waren.

GOMES DE FARIA, CUNHA und O. DA FONSECA haben Meerwasser-Protozoen aus der Bucht von Rio de Janeiro und aus dem Atlantischen Ozean bis zur Muendung des Rio de la Plata studiert, und es gelang ihnen, neue Arten fuer den suedamerikanischen Plankton aufzustellen.

Die vorliegende Arbeit wurde mit dem Material aus dem Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro und der Umgebung der Ilha Grande ausgefuehrt.

Die studierten Protozoen wurden vorgefunden bei direkter Untersuchung des Meerwassers, oder sie entwickelten sich, wenn dieses in Kristallisatoren im Laboratorium aufbewahrt wurde. Die Protozoen des Plankton, die in unserer vorigen Arbeit schon bezeichnet wurden, behandeln wir hier nicht wieder.

Klasse: *Sarcodina* HERTW et LESSER.

Unterklasse: *Rhizopoda* VON SIEBOLD.

Ordnung: *Amoebina* EHRENBERG.

Familie *Paramoebidae* DOFLEIN.

1. Paramoeba schaudinni nov., sp.

(Taf. 23, Fig. 1 bis 11.)

In einem unserer kleinen Meerwasser-Aquarien, das zahlreiche Flagellaten enthielt, fanden wir, als deren Zahl anfing abzunehmen, eine *Paramoeba*, die wir als unbekannte Art beschrieben.

Dieser Rhizopode wurde auf dem Naehrboten, den wir beschreiben werden, leicht kultiviert und die Kultur hielt sich monatelang. Der gebrauchte Naehrboden bestand aus einer Infusion von Kohlblaettern in filtriertem Meerwasser, welchem 0,5% steriliziertes Agar hinzugefuegt wurde; dann wurde er in Drygalski-Platten verteilt, wo die Kulturen gemacht wurden.

Die Beobachtung der *Paramoeba* wurde in frischen Praeparaten vorgenommen, und an solchen, die mit Sublimat-Alkohol nach SCHAUDINN fixiert und nach der klassischen Methode HEIDENHAIN's gefaerbt waren.

Lebend (Taf. 23, Fig. 1). stellt der Rhizopode eine sehr veraenderliche Form vor. Man kann leicht ein durchsichtiges und lichtbrechendes Ektoplasma und ein koerniges, mit Vakuolen versehenes Endoplasma unterscheiden. Im Ruhezustand bildet das Ektoplasma um das Endoplasma herum eine Schicht von ungefaehr gleicher Dicke; in der Bewegung dagegen bildet das Ektoplasma hauptsaechlich die Pseudopodien und bleibt bei den uebrigen Koerperteilen auf eine sehr kleine Zone beschraenkt.

Die Vakuolen des Endoplasmas sind von verschiedener Groesse und unregelmaessiger Anordnung, und es ist unmoeglich hier zwei Zonen zu unterscheiden wie bei der *Paramoeba eilhardi* SCH., wo es in der Mitte eine Zone von grossen Vakuolen und eine peripherische Zone von kleinen Vakuolen gibt.

Es ist noch keine kontraktile Vakuole beobachtet worden, wie es auch mit der *Paramoeba eilhardi* SCH., geschieht, und was gewoehnlich bei Meeresprotozoen der Fall ist.

Die Pseudopodien bilden sich langsam und unregelmaessig an irgend einer Stelle der Aussenflaeche des Koerpers; ihre Form und ihr Aussehen ist auch sehr verschieden: bald sind sie kurz und das Tier zeigt euterfoermige Vorspruenge bald sind sie lang, fingerfoermig, mit Verlaengerungen, die manchmal so gross sind wie der Rest des Koerpers und die dem Rhizopode die Form eines unregelmaessigen Sternes geben.

Der Kern, der selbst waehrend des Lebens des *Paramoeba* zu sehen ist, liegt im Endoplasma, meistens nahe der Mitte des Protozoens (Tafel. 23. Fig. 1). Er hat die Form eines hellen, runden Blaeschens von etwa drei bis vier Mikra Durchmesser, in dessen Mitte sich ein ebenfalls rundes Karyosom befindet, das den groessten Teil des Kernes ausfuellt.

Neben disem sieht man ein Gebilde, fuer das wir den Namen *Nebenkern* vorschlagen, (*Nebenkoerper* nach SCHAUDINN), das in frischen Praeparaten die Form eines lichtbrechenden Koerperchens darstellt und von einem hellen Hofe umgeben ist (Taf. 23, Fig. 1).

In Praeparaten gefaerbt mit Eisen-Hematoxilin nach HEIDENHAIN, wird die Unterscheidung zwischen Endo- und Ektoplasma weniger deutlich; immerhin ist der Unterschied bei einigen Exemplaren bemerkenswert (Taf. 24, Fig. 2).

Die Struktur des Plasmas gleicht der, die wir beim lebendigen Tier beschrieben haben; sie ist aber mehr ausgepraegt.

Der Kern zeigt ein grosses rundes Karyosom, das den groessten Teil von ihm einnimmt. Um dieses herum gibt es einen hellen Hof, welcher die Kernsaftzone bildet und der das Karyosom von der Kernhaut trennt.

Oft kann man Lininfaeden beobachten, die von dem Karyosom ausgehen,

und an der Peripherie des Kernes enden (Taf. 24, Fig. 2 und 3).

Der Nebenkern *(Nebenkörper)* hat die Form einer laenglichen Ellipse, befindet sich neben dem Hauptkern, und kann zweierlei Aussehen haben. In einigen Exemplaren besitzt er einen Mittelteil in Form eines Querstreifes, der durch das Eisen-Hematoxilin stark gefaerbt ist. Auf beiden Seiten dieses Mittelteils befinden sich zwei schwach gefaerbte Kugelabschnitte, in denen ein stark gefaerbtes Koernchen (Centrosom) zu sehen ist, die oft mittels eines Fadens (Centrodesmose) verbunden sind, der den mittleren Teil durchschneidet.

In einigen Exemplaren bemerkten wir, statt eines Koernchens zwei auf jeder Seite, die durch zwei Faeden mit gegenueberliegenden Koernchen verbunden sind (Taf. 25, Fig. 3). In anderen Faellen stellt der Nebenkern einen groesseren mittleren achromatischen Teil und einen chromatischen dar, der sich in beiden Polen des Nebenkernes befindet, in Form von zwei Baendern (Taf. 23 und 24, Figs. 6, 7, 8).

In diesen Faellen werden keine Koernchen beobachtet. Wir glauben, dass dieses Gebilde von der Art der Teilung des Nebenkernes abhaengt.

Die Vermehrung des Protozoons findet durch Zweiteilung statt, und es war unmoeglich, irgend eine andere Vermehrungsart unzweifelhaft zu beobachten. Die Teilung des Kernes und des Nebenkernes geht stets der des Plasmas voran, wie es die Figuren 6 und 7 der Tafel 25 zeigen, wo man ungeteilte Exemplare dieses Rhizopoden beobachtet, die zwei Kerne und zwei Nebenkerne tragen.

Die Teilung des Kernes und des Nebenkernes geschieht fast stets gleichzeitig; allerdings haben wir Exemplare beobachtet, wie das auf der Taf. 25, Fig. 8 befindliche, bei denen ein einziger Kern und zwei Nebenkerne vorhanden waren, was die fruehzeitige Teilung dieses Organs beweist. Die Teilung des Kernes, ebenso wie die des Nebenkernes wird unabhaengig volzogen.

Es gelang uns nur zwei Stadien der Kernteilung zu beobachten. In dem einen, das auf der Figur. 4, Taf. 25, abgebildet ist, sieht man eine Aequatorialplatte, die aus ungefaehr acht koernchenförmigen Chromosomen besteht. Diese Platte befindet sich in einem hellen Raum, ohne dass man das Vorhandensein einer Spindel beobachten koennte. In einem anderen Exemplar (Taf. 25, 5) sieht man deutlich eine achromatische Spindel mit Centriolen an den Polen. Das Chromatin verteilt sich auf zwei Polarplatten, von denen jede aus etwa 8 Chromosomen besteht, welche die Form von Koernchen haben.

Ueber die Art der Teilung des Nebenkerns haben wir sehr wenig beobachten koennen. Er teilt sich meistens gleichzeitig und unabhaengig von dem Kerne; er kann sich in manchen Faellen vor dem Kerne teilen, wie schon oben erwaehnt ist. Das Gegenteil, das heisst, die Teilung des Kernes vor der des Nebenkernes ist nie beobachtet worden. In den Exemplaren, bei denen wir Teilungsphasen des Kernes beobachtet haben, erscheint der Nebenkern laenglich, und besitzt an beiden Enden eine Reihe von chromophilen Koernchen durch ein achromatisches Gebilde von fasiger Struktur verknuepft, das an eine Spindel erinnert (Taf. 24, Fig. 4 und 5).

In den Kulturen der *Paramoeba schaudinni* fanden wir haeufig neben grossen Exemplaren, wie den oben beschriebenen, auch andere, mit aehnlicher Morphologie, aber viel kleiner (Taf. 25, Fig. 9).

Waehrend der Durchmesser der grossen Individuen mehr als 15 Mikra betraegt, haben dagegen die kleinen nur 6 bis 7 Mikra Durchmesser. Diese kleinen Exemplare ordnen sich meist in Gruppen (Taf. 25, Fig. 9) und scheinen aus der starken Vermehrung des Rhizopoden zu entstehen. Dafuer spricht das Aussehen

des Nebenkernes, der stets mit chromatischen Polarplatten versehen ist, eine Erscheinung, welche, wie wir schon sahen, von der Teilung dieses Organs abzuhaengen scheint.

Es ist uns nicht gelungen, die Natur dieser Formen aufzuklaeren, ob es sich um Gameten handelt, oder um Individuen, die dazu bestimmt sind, sich in Geisselformen zu verwandeln.

Einmal haben wir ein Individuum beobachtet (Taf. 25, Fig. 10), auf dem man ein Gebilde sah, das an die Verschmelzung zweier Kerne oder eines Kernes mit einem Nebenkern erinnerte.

Es ist uns allerdings unmoeglich gewesen, andere Stadien zu beobachten, welche die Erklaerung dieser Erscheinung als einen Karyogamieprozess bestaetigen koennten.

In Kulturen, wo die kleinen Formen von *Paramoeba* zahlreich waren, haben wir oft ein grosses Individuum bemerkt, das in seinem Innern eine oder mehrere kleine Formen trug, die 3 Mikra lang waren, und 4 Mikra Durchmesser hatten, das heisst, die kleinsten bisher beobachteten Formen.

In der Figur 2, der Tafel 25 stellen wir ein dieser Exemplare vor, welches Kern und Nebenkern besitzt, und das in ihrem Innern vier kleine *Paramoeba* aufweist.

Unserer Meinung nach, kann diese Erscheinung nur auf zweierlei Weise erklaert werden: entweder bilden sich die kleinen *Paramoebae* auf Kosten der grossen, in deren Innern sie sich befinden, durch innere Knospung, oder sie werden von den grossen verschlungen, aus Mangel an geeigneter Nahrung (Kanibalismus). Die *Paramoebae* sind in der Tat sehr gefraessig, und man findet oft in ihrem Innern kleine Flagellaten, wenn diese in den Kulturen vorhanden sind. Fuer diese letzte Ansicht spricht die Tatsache, dass man im Innern der grossen *Paramoebae* eine schwankende Zahl kleinerer antrifft, und auch, dass man, wie es von uns einmal beobachtet worden ist, neben kleinen *Paramoebae* auch ein Individuum, der Art *Gymnodinium* findet, welches manchmal, in der Kulturen des Rhizopoden erschien.

Obwohl wir diesem Punkte besondere Aufmerksamkeit widmeten, ist es uns bei unseren Untersuchungen niemals gelungen Geisselformen zu beobachten, die als eine Phase des Entwicklungskreises des Rhizopoden haette betrachtet werden koennen. Zuweilen erschienen Flagellaten in den Kulturen, aber bei der Beobachtung hat sich nie ein Nebenkern gezeigt, was erlauben wuerde, sie als Entwicklungsstadien von *Paramoebae* zu betrachten.

Wir haben auch keine Einkapslungsformen dieses Rhizopoden beobachtet.

Ueber die von dem Nebenkern im Leben der Prootozoen erfuellte Funktion, war es unmoeglich, neue Tatsachen festzustellen, welche die bisher dunkle Rolle dieses interessanten Organs haetten erklaeren koennen.

SCHAUDINN betrachtet den Nebenkern (Nebenkoerper) als gleich bedeutend mit dem Centrosom, der bei der Teilung der Geisselform der *Paramoeba eilhardi* SCH. die Rolle von Bewegungsorgan ausuebt. CHATTON verteidigt eine aehnliche Meinung.

JANICKI, der ausfuehrlich zwei Arten von *Paramoebae*, *(P. pigmentifera* GRASSI und *P. chaetognathi* GRASSI)) studiert hat, die als Parasiten von Chaetognaten gefunden werden, betrachtet den Nebenkern, den er *nucleus secundus* nennt, als einen zweiten, vielleicht durch einen Degenerationsprozess veraenderten Kern. Fuer JANICKI bildet der mittlere Teil des Nebenkernes (Mittelstueck), der, nach seinen Forschungen, eine eigene Membran besitzt, fuer sich allein einen Kern; die Seitenteile sind ihn Kugelabschnitte von Archoplasma, die in ihrem Innern die Centrosome tragen.

In unseren Untersuchungen haben

wir keine Tatsache festgestellt, die uns erlaubt haette, den Nebenkern als Centrosom zu betrachten, und wir glauben eher, dass dieses Organ einen zweiten Kern darstellt, wie es JANICKI meint, in dauerndem Teilungszustand; wir bezweifeln nur den Degenerationscharakter, den JANICKI den Veraenderungen des Nebenkernes zuschreibt.

Es gibt bisher nur eine einzige Art von freilebenden *Paramoebae,* welche die typische Art der Gattung ist *(Paramoeba eilhardi* SCH.), und die, wie die unsrige, im Meerwasser lebt.

Die hier studierte Art ist von der von SCHAUDINN beschiebenen dadurch verschieden, dass sie einen Kern hat, dessen sehr grosses Karyosom fast das gesamte Chromatin des Kernes in sich fasst, waehrend in der *Paramoeba eilhardi* dieses stark entwickelt und von unzaehligen Koernchen in der Kernsaftzone vertreten ist.

Unsere Art erreicht ausserdem, nie die hoechsten Masse, die SCHAUDINN fuer die *Paramoeba eilhardi* angibt, und in dem Endoplasma findet man nicht die beiden Zonen, die durch die Groesse der Vakuolen unterschieden werden.

Klasse: *Mastigophora* DIESING.
Unterklasse: *Flagellata* CLAUS.
Ordnung: *Rhizomastigina* BUETSCHLI.

Familie: *Ciliophryidae* POCHE, 1913. FARIA, CUNHA *et* PINTO *em.* 1922.
Syn.: *Helioflagellidae* DOFLEIN, 1916. *In* Lehrb. der Protoz. 1916, S. 711-712.

POCHE stellte im JAHRE 1913, diese Familie auf, die er unter die Heliozoarien einschloss, und die fuer ihn nur die Gattung *Ciliophrys* CINK. aufweist.

1916 vereinigte DOFLEIN die Gattungen *Dimorpha* GRUBER, *Ciliophrys* CINK, *Actinomonas* KENT und *Pteridomonas* PENARD zu einer Familie, die er *Helioflagellidae* DOFLEIN 1916 nannte.

Wir glauben, DOFLEIN hat Recht, die oben genannten Gattungen in eine einzige Familie einzuschliessen; nur die von DOFLEIN angewandte Benennung *Helioflagellidae* besteht nicht zurecht, da sie von keinem Namen einer Flagellatengattung abgeleitet worden ist. Darum haben wir die Bezeichnung *Ciliophryidae* gewaehlt, die POCHE vorschlug, und die aus der aeltesten Gattung der Familie herstammt, und wir geben ihr eine erweiterte Diagnose als die von POCHE, so dass wir in diese alle von DOFLEIN bezeichneten Gattungen einschliessen koennen.

Wir bleiben dabei, diese Familie zu den Fagellaten zu rechnen und nicht zu den Heliozoarien, wie es POCHE und DOFLEIN taten, obwohl wir keine neue Kenntnisse erworben haben, um entgueltig die Frage ihrer systematischen Stellung zu loesen.

Diagnose: Rhizomastigien, die Pseudopodien besitzen, welche strahlenfoermig verteilt sind, mit oder ohne Achsenfaeden und mit Koernchenketten versehen.

Typische Gattung: *Ciliophrys* CIENKOWSKI, 1876.

Diagnose: Flagellaten, die zwei Entwicklungsphasen haben: die der Heliozoarien, geissellos, ohne deutlichen Unterschied zwischen Ekto- und Endoplasma, mit feinen, starren, strahlenfoermigen Pseudopodien, welche die gewoehnlichen Koernchenketten der Heliozoen zeigen, und die mit kontraktilen Vakuolen versehen sind; die zweite Phase, oder Geisselform, hat keine Pseudopodien und besitzt am Vorderteil eine Geissel.

Kern bei beiden Formen mit Central-Karyosom und einer ringfoermigen, peripharischen Chromatinzone.

Die Vermehrung findet waehrend des Heliozoarienstadiums durch Zweiteilung statt.

Es hat tierische Ernaehrung und ist *oligo-* und *meso-saprobium.*

2. Ciliophrys marina CAULLERY, 1909.

Beschreibung: Zellen im Heliozoenstadium kugelfoermig und unregelmaessig, ohne deutlichen Unterschied zwischen Endo- und Ectoplasma; das letztere traegt in seiner aeussersten Zone zahlreiche Ernaehrungsvakuolen. Das Plasma weist auch zahllose kleine, lichtbrechende, farblose Koerperchen auf.

Der Kern hat ein mittelstaendiges Karyosom und eine peripherische Chromatinzone, die zuweilen sternfoermig oder nach dem Plasma hin strahlenfoermig ist.

Eine Ausscheidungsvakuole ist vorhanden. Von der Oberflaeche des Koerpers gehen nach allen Rhichtungen zahlreiche, starre und feine Pseudopodien aus, die Koernchenketten zeigen, und die keine Achsenfaeden besitzen. Die Groesse des Kernes schwankt zwischen sieben und zehn Mikra.

Im Flagellatenstadium sind die Zellen eifoermig mit zugespitztem Hinterteil; das Vorderteil ist mit einer Geissel versehen, die ein wenig laenger ist als der Koerper. Der Kern hat dieselbe eben beschriebene Struktur, und liegt am Vorderteil nahe der Geisselbasis.

Dieses Protozoen ist etwas selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, und erscheint in groesserer Fuelle, wenn das Wasser in Kristallisatoren aufbewahrt wird.

Ordnung: *Protomonadina* (BLOCHMANN, 1895) HART. *emend.*

3. Monas guttula EHRENBERG, 1830.

Diese Art wurde im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro gefunden, das im Laboratorium aufbewahrt worden war.

4. Pseudobodo tremulans GRIESSMANN.

In geringer Zahl im Meereswasser der Bucht von Rio de Janeiro vorhanden.

Cruzella nov, gen,

Diagnose: Freilebende Protomonadine, die eine vordere und eine hintere Geissel aufweist, die beide von je einem Basalkoerperchen ausgehen. Einkerniges Protozoon.

5. Cruzella marina nov., sp.
(Taf. 24, Fig. 12—14).

Protozoon, das eine mannigfaltige Koerperform zeigt. Der Koerper ist spindel- oder eifoermig, und wenig abgeplattet und metabolisch.

Das Hinterende ist mehr oder weniger zugespitzt, zuweilen abgerundet, und das Vorderende ist gekruemmt und bildet eine Verlaengerung in Form eines Ruessels.

Die Oberflaeche des Koerpers ist von feinem Perisplast bedeckt, das metaboliche Bewegungen erlaubt.

Das Plasma hat eine feine Wabenstruktur, die in fixierten Praeparaten deutlich ist. Am Hinterteil des Koerpers bemerkt man gewoehnlich winzig kleine Vakuolen, die Nahrungspartikeln (manchmal schwarze) enthalten; der Vorderteil ist stets durchsichtiger und nur selten mit Vakuolen versehen.

Weder kontraktile Vakuole noch Nahrungsaufnahme wurden festgestellt.

Die *Cruzella marina* ist mit einer vorderen und einer hinteren Geissel versehen. Die vordere ist kuerzer und geht vom Vorderende des Ruessels aus; die hintere faengt unter der Basis des Ruessels, und an der konkaven Seite an.

Ihre vordere Geissel hat die ungefaehre Laenge des Koerpers; die hintere ist fast doppelt so lang als das Protozoon.

Der Kern liegt ungefaehr in dem mittleren Teil des Koerpers oder ein

wenig nach vorn; er ist voller Blaeschen und besitzit ein grosses Karyosom, meistens sehr dick, in dessen Innern nur selten das Centriol gesehen werden kann, das in der Centralzone liegt.

In der Kernsaftzone gibt es kein peripherisches Chromatin. Die Kernmembran ist vorhanden, aber wenig deutlich. Es war unmoeglich, den Kernteilungsprozess dieses Protozoons in allen seinen Phasen zu verfolgen; allerdings haben wir in unseren Praeparaten einige Phasen dieser Teilung beobachtet, die wir in den Figuren 13 und 14 der Tafel 25, darstellen.

In der Fig. 13 sieht man eine der Teilungsphasen, in der eine Spindel mit zwei Polarplatten sichtbar, und in der die Kernmembran noch nicht verschwunden ist. Der Geisselapparat bleibt in diesem Kernteilungsstadium ohne Zeichen von Teilung.

In der Fig. 14 bleiben die beiden Tochterkerne, die schon vollstaendig ausgebildet sind, noch durch Centrodesmosen verbunden. In diesem Stadium (Fig. 14) besteht der Geisselapparat aus vier Geisseln, die von vier Basalkoerperchen ausgehen, und von denen je zwei durch Rhizoplasten verbunden sind. Jedem Paare von Basalkoerperchen entspricht eine vordere und eine ruecklaeufige Geissel.

Das Protozoon zeigt nun einen Anfang von Plasmateilung, und nimmt eine Form an, die von der vegetativen Form verschieden ist.

Vorkommen: Sie lebt im Meerwasser.

Gattung: Colponema STEIN, 1873.

Diagnose: Nackter Koerper, nicht metabolisch, eifoermig oder in Form eines regelmaessig abgeplatteten S (BUETSCHLI).

Die ventrale Seite ist mit einer tiefen Furche versehen, deren Raender in Schlangenlinien verlaufen, und die am Vorder- und Hinterende des Koerpers breiter wird. Es gibt zwei Geisseln, eine vordere und eine hintere, die laenger ist; beide sind am Vorderende der Furche eingefuegt.

Sie besitzt eine oder zwei kontraktile Vakuolen am Vorder oder Mittelteil des Koerpers.

Die Ernaehrung und die Vermehrung sind unbekannt. Wir haben die Diagnose der fraglichen Gattung, so wie sie von BUETSCHLI, KLEBS und anderen gegeben wurde, leicht abgeaendert, um zu ihr die untere Art mitrechnen zu koennen, welche alle wichtigsten Kennzeichen dieser Gattung hat, aber in der ganzen Form, von der typischen Art verschieden ist.

6. Colponema globosum nov. sp.

(Taf. 24, Fig. 15).

Ihr Koerper ist von sehr breiter Eiform, fast ein stark abgeplatteter Kreis; das Vorderende ist ein wenig schmaler als das Hinterende. Die ventrale Furche ist tief, breit, mit abgerundeten, hervorragenden Raendern, die sich im Mittelteil verengen, um an den beiden Enden breiter zu werden, hauptsaechlich an dem hinteren.

Masse: 15 Mikra Laenge zu 13 bis 14 Breite.

Die Geisseln sind an dem vorderen Fuenftel des Koerpers eingefuegt, in der Hoehe der ventralen Furche. Die vordere Geissel ist kuerzer als der Koerper und die hintere doppelt so lang als dieser.

Grosse kontraktile Vakuole in der vorderen Haelfte des Koerpers.

Das Plasma enthaelt kleine, stark lichtbrechende Koerperchen.

Es ist uns unmoeglich gewesen, diesen Flagellaten in gefaerbten Praeparaten zu beobachten, um seine Cytologie, und hauptsaechlich die Einfuegung der Geisseln zu studieren, um ueber seine systematische Stellung entscheiden zu koennen, und nur vorlaeufig haben wir ihn unter die Protomonadinen eingeschlossen.

Vorkommen: Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro beobachtet.

7. Rhinchomonas nasuta.

Ordnung: *Binucleata* HART.

8. Eutreptiella marina CUNHA, 1913.
(Taf. 24, Fig. 16).

Oft und manchmal in Mengen im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro gesehen.

9. Calycomonas gracillis LEHMANN.

Selten im Nanoplankton gesehen.

10. Anisonema grande.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro angetroffen.

11. Pleotia vitrea.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

12. Marsupiogaster picta, nov. sp.
(Taf. 25, Fig. 17).

Ihr Koerper ist von oben nach unten abgeplattet, breiter am Mittelteil, und wird an den beiden Enden allmaehlich schmaler. Das Vorderende ist breiter und abgerundet, und das hintere duenner, und endet nicht in scharfe Spitze. Die Membran zeigt feine, spiralfoermige Streifen, die in der Laengsrichtung verlaufen. Der Koerper des Protozoons hat eine gleichfoermige Orangefarbe, die nicht von dem Vorhandensein von Chromatophoren abhaengt, sondern scheinbar auf der Durchdraengung des Plasmas mit einer gefaerbten Substanz beruht. Das Plasma besitzt grosse, kugelige, mehr oder weniger regelmaessige Koernchen (Fig. 17), die hauptsaechlich am Hinterteil des Protozoons liegen. Am Vorderteil sieht man den Mund in Form einer eifoermigen Oeffnung, die sich in einer sackfoermigen Aushoehlung fortsetzt; vom Grunde dieser Aushoehlung gehen zwei dicke Geisseln von ungleicher Laenge aus. Die groessere von ihnen ist ungefaehr dreimal so gross wie der Koerper, nach vorn gerichtet, und endet in feiner Spitze. Die andere ist kleiner als der Koerper, nach hinten gerichtet, und endet wie die vorige.

Vorkommen: Sie lebt in Meerwasserkulturen, wo sie selten erscheint. Bucht von Rio de Janeiro.

Ordnung: *Chromomonadina.*

13. Wysotzkia sp.
(Taf. 25, Fig. 18).

Wir haben im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro eine *Wysetzkia* gefunden, die wir aus Mangel an Literatur nicht haben bestimmen koennen.

Ordnung: *Phytomonadina.*

14. Carteria sp.

Im Nanoplankon der Bucht von Rio de Janeiro haben wir haeufig eine *Carteria* gefunden, die der in einer Arbeit von LOHMANN beschriebenen sehr aehnelt. Wir haben ausserdem noch Formen gefunden, wie die der Figur 19, deren Hinterende spitz auslaeuft, was den einzigen Unterschied zwischen ihr und der vorigen Form bildet.

15. Carteria minima (DANGEARD, 1888) DILL.
(Taf. 25, Fig. 20 und 21).

Diese *Carteria* hat 10 *Mikra* Laenge zu 7 *Mikra* Breite. In der Figur 21 geben wir eine Teilungsform, die der von DANGEARD aehnlich ist.

Ordnung: *Peridinea.*

Wir behandeln in dieser Arbeit nur die Arten, die in dem Plankton noch nicht beobachtet sind und welche in der Arbeit ueber das Plankton der Bucht von Rio de Janeiro erwaehnt sind.

16. Exuviella lima (EHRB., 1895) BUTSCHLI emend.

Diese Art ist im Meerwasser der

Bucht von Rio de Janeiro festgestellt worden.

17. Exuviella sp.
(Taf. 25, Fig. 22 und 23).

Masse:
Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro gefunden.

18. Prorocentrum sp.
(Taf. 25, Fig. 24).

Masse:
Ist manchmal in Mengen vorhanden, und bildet dann eintoeniges Plankton. Lebt im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

19. Oxyrrhis marina DUJARDIN.

20. Oxyrrhis phaeocysticola SCHERFF.

Diese beiden Arten sind im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro beobachtet worden.

21. Spirodinium spirale (BERGH, 1881) SCHUTT emend.

Erschien manchmal in Fuellen im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, das im Laboratorium aufbewahrt wurde. Bucht von Rio de Janeiro.

Klasse: *Infusoria* O. F. MUELLER.
Unterklasse: *Ciliata* O. PERTY.
Ordnung: *Holotricha* STEIN.

22. Chaenea teres DUJARDIN, 1841.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, selten.

23. Lagynus laevis QUENN., 1867.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, beobachtet.

24. Trachelocerca phoenicopterus COHN, 1865.

Erscheint haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro. Sie ist auch in der Naehe der Ilha Grande festgestellt worden.

25. Didimum balbianii BUTSCHLI, 1887-89.

Einmal in verhaeltnissmaessiger Menge im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, gefunden.

26. Mesodinium pulex CLAP., et LACH., 1858-61.

Haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, angetroffen.

27. Mesodinium acarus STEIN, 1862.

Suesswasserform, die manchmal im Meerwasser der Bucht von Rioo de Janeiro, beobachtet worden ist.

28. Lionotus cygnus O. F. MULLER, 1786.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, gesehen.

29. Lionotus fasciola O. F. MULLER, 1786.

Suesswasserform, die manchmal im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, gesehen wurde.

30. Loxophylum setigerum QUENN., 1867.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, festgestellt.

31. Chlamidodon mnemosyne EHRB., 1838.

Verhaeltnissmaessig haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro und in der Naehe der Ilha Grande, beobachtet.

32. Aegytia oliva Cl., et LACH., 1858.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, gesehen.

33. Trochilia sygmoides DUJ., 1841.
(Taf. 25, Fig. Fig. 27—32).

Obwohl diese Art haeufig im Meerwasser vorkommt, ist sie bis jetzt wenig bekannt. HAMBURGER und BUDDENBROCK geben in den «Ciliaten des nordischen Planktons» eine sehr kurze Beschreibung dieses Ciliaten und bringen Zeichnungen von DUJARDIN, CLAPARADE und LACHMANN.

BUDDENBROCK hat neuerdings diesa Art wieder beschrieben und gezeichnet, und nennt sie *Ervilia sigmoides* DUJ.

Obwohl die Beschreibung BUDDENBROCK's in vielen Punkten zuverlaessig ist, ist sie doch in anderen unzulaenglich; darum halten wir es, nach dem, was uns zu beobachten gelang, fuer richtig, diese Art in unserer Arbeit wieder zu beschreiben.

Wir glauben auch, dass die Benennung *Ervilia sigmoides* mit der BUDDENBROCK diese Art bezeichnet, nicht den Vorzug verdienen kann, da dieses Ciliat die typische Art der Gattung *Trochilia* ist.

Der Koerper ist mehr oder weniger eifoermig, ungefaehr 20 *Mikra* lang und 12 *Mikra* breit; sein Vorderende ist nach rechts gekruemmt. Er ist von oben nach unten abgeplattet, die ventrale Seite ist flach, und die dorsale konvex, und mit einer Reihe (etwa sechs) von leicht gebogenen Vorspruengen versehen, die in der Laengsrichtung verlaufen. Die Cilien sind nur an der ventralen Seite vorhanden, und bilden vier laengslaufende Linien, die von der Basis der Schwanzverlaengerung ausgehen, und mit dem linken und vorderen Rande des Ciliatenkoerpers in geringer Entfernung parallel laufen, und die an dem Vereinigungspunkt des vorderen und rechten Randes enden.

Ausser diesen gibt es noch zwei kleine, parallele Linien von Cilien, die von dem vorderen, rechten Ende ausgehen, und nach hinten und links laufen, um in der Nache der Mundoeffnung zu enden. Diese ist eifoermig, und setzt sich nach hinten und nach links in einer langen, kegelfoermigen Speiseroehre fort, die keine Staebchen hat. Am Hinterende gibt es eine dornfoermige Schwanzverlaengerung, welche gegliedert und beweglich ist. Es gibt zwei kontraktile Vakuolen, die in der Mittellinie, dicht unter der dorsalen Seite liegen. Der Kern ist elliptisch, und liegt in dem Mittelteil des Koerpers, etwas naeher dem rechten Rande.

In nach HEIDENHAINN gefaerbten Praeparaten sieht man, dass der Kern aus einem chromophilen Teil besteht, der haeufig kleine, staerker gefaerbte Chromatinkoernchen aufweist (Taf. 25, Fig. 29, 31 und 32), und aus einem Teil, der sich schwach und einfoermig faerbt. In den meisten Faellen liegt der chromophile Teil an einem der Enden, waehrend das andere durch den achromatischen Teil ausgefuellt wird (Taf. 25, Fig. 29). In einigen Faellen liegt der stark gefaerbte Teil in der Mitte des Kernes in Form eines Bandes (Taf. 25, Fig. 30).

Der Mikronukleus liegt neben dem Makronukleus an einem der Enden (Taf. 25, Fig. 29). Die Anfangsphase der Kernteilung (Taf. 25, Fig. 30). scheint aus einem mittelstaendigen, stark gefaerbten Band zu bestehen; in einer fortgeschrittenen Teilungsphase teilt sich dieses Band in zwei, die sich vollstaendig trennen (Taf. 25, Fig. 31). In der letzten Teilungsphase sieht man die Abschnuerung des Kernes (Taf. 25, Fig. 32) und jeder, durch Teilung erstandene Kern besitzt einen am Ende liegenden Mikronucleus (Taf. 25, Fig. 32).

Der Koerper des Ciliaten weist auch Plasmateilung auf mit den zugehoerigen Einfuegungslinien der Cilien (Taf. 25, Fig. 32).

Vorkommen: In Mengen im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, gefungen.

34. Dysteria monostylla EHRG., 1838.

Haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, und in der Naehe der Ilha Grande, gefunden.

35. Dysteria compressa GOURT et ROESER, 1888.

(Taf. 25, Fig. 26).

Bei unseren Forschungen haben wir eine Art von *Dysteria* gefunden, die sich der *Dysteria compressa* von GOURET und ROESER sehr naehert, und wir glauben uns nicht zu irren, wenn wir sie fuer die von diesen Verfassern beschriebene halten.

Der Koerper ist 45 *Mikra* lang und 28 breit, in Form eines Vierecks, von oben nach unten abgeflacht, und weist am Hinterende, in der Naehe des rechten Randes, eine kleine spitzige Verlaengerung auf. Das Protoplasma ist koernig.

Die Cilien bilden Laengslinien neben dem linken und vorderen Rand. Sie sind fein und lang in der Naehe der Schwanzverlaengerung; es gibt aber einige, die laenger und dicker sind.

Die Schwanzverlaengerung ist dreieckig, ein wenig gekruemmt. und liegt am linken Rande, nahe dem Hinterende des Ciliaten.

Der Mund ist eifoermig, und liegt nahe dem Vereinigungspunkte des linken und vorderen Koerperrandes; er setzt sich nach hinten und nach rechts durch eine lange, kegelfoermige Speiseroehre fort, die sich bis zur Naehe des Hinterendes verlaengert.

Der Kern ist laenglich-eifoermig, und liegt schraeg im Mittelteil des Koerpers. Es gibt zwei oder drei kontraktile Vakuolen, die nahe am linken Koerperrande liegen.

Vorkommen: Selten im Meerawsser der Bucht von Rio de Janeiro.

36. Dysteria brasiliensis nov., sp.

(Taf. 25, Fig. 25).

Ihre Laenge betraegt ungefaehr 150 *Mikra* und ihre Breite etwa 60 *Mikra*.

Der Koerper ist von oben nach unter abgeplattet, ungefaehr dreieckig, und sein Vorderende ist breiter als das Hinterende. Der rechte Rand ist fast geradlinig, der vordere ein wenig schraeg und konvex; der rechte ist konvex, und endet am Hinterteil in einer nach links gekruemmten Spitze. Das Protoplasma ist durchsichtig und besitzt grosse Vakuolen. Die Cilien sind auf ein Band beschraenkt, das ungefaehr ein Drittel der Koerperbreite einnimmt, und bilden Linien aus langen, feinen Faeden, die mit dem linken und vorderen Koerperrand parallel laufen. Nahe dem Hinterende gibt es eine kleine Schwanzverlaengerung in Form eines Dreiecks. Der Mund ist eifoermig, liegt in der Naehe des Vereinigungspunktes des linkes Randes mit dem vorderen und verlaengert sich in eine verhaeltnismaessig kleine Speiseroehre, die bis zur Mitte des Koerpers geht.

Die Speiseroehre ist eine kegelfoermige Roehre, die in dem Vereinigungspunkte des vorderen Drittels mit dem mittleren eine Einschnuerung traegt. In dem Munde gibt es noch eine undulierende Membran, die bei anderen Arten nicht boebachtet worden ist.

Der Kern ist zylindrisch, mit abgestumpften Enden und liegt nahe und parallel dem rechten Rande.

Es gibt zwei kontraktile Vakuolen, die in der Naehe des linken Randes vor und hinten dem Kerne liegen.

Vorkommen: Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, selten gefunden.

37. Ciclidium glaucoma O. F. MULLER, 1786.

Haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, vorhanden.

38. Pleuronema crysalis EHRBG., 1838.

Selten im Meerwasser der Bucht

von Rio de Janeiro und in der Naehe der Ilha Grande beobachtet.

39. Lembus pusillus QUENN., 1869.

Haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, gefunden.

40. Lembus infusionum COLK.

Haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, beobachtet.

41. Plagiopyla nasuta STEIN, 1860.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

Protocruzia nov. gen.

1866 beschrieb COHN unter den Namen *Colpoda pigerrima* COHN, einen im Meerwasseraquarium gefundenen Ciliaten.

HAMBURGER und BUDDENBROCK (Nordisches Plankton, Ciliata S. 64) rechnen diesen Ciliaten zu der Gattung *Blepharostoma* SCHEW., 1893.

Bei unseren Untersuchungen haben wir die Gelegenheit gehabt, im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro einen Ciliaten zu beobachten, der die Kennzeichen der von COHN beschriebenen Form besass. Wir glauben, dieser Ciliat kann weder in der Gattung *Colpoda*, noch in der Gattung *Blepharos* oder in irgend einer anderen bekannten Gattung Platz finden; darum haben wir eine neue Gattung geschaffen, die wir *Protocruzia* (1) nennen.

Diagnose: Ciliat mit abgeplattetem Koerper mit langen, feinen Cilien versehen, die in Laengslinien angeordnet sind. Das Peristom hat die Form einer Furche, geht von dem Vorderende bis ungefaehr zur Mitte des Koerpers, und weist an seinem Rande eine Reihe von laengeren und dichteren Cilien auf als die, welche den Koerper bekleiden.

(1) Zur Gedaechtnis an OSWALDO CRUZ.

Es gibt eine eizige kontraktile Vakuole, die am Vorderende des Koerpers liegt.

42. Protocruzia pegerrima (COHN, 1866. NOBIS, 1922.

Synonym: *Colpoda pigerrima* COHN, 1866:

Blepharostoma pigerrima (COHN, 1866) SCHW.
(Taf, 25, Fig, 33),

Hat die Kennzeichen der Gattung.

Masse: Etwa 20 *Mikra* Laenge zu 10 *Mikra* Breite.

Vorkommen: Ist verhaeltnismaessig haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro gefunden, das im Laboratorium aufbewahrt wurde.

43. Blepharisma clarissima ANIGST.,

Im Meerwasser der Naehe der Ilha Grande, beobachtet.

44. Spirostomum lanceolatum GRUBER, 1884.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

45. Condylostoma patens (O. F. M., 1786).

Ist selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

46. Stentor polymorphus (O. F. M., 1786.)

Ist selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

47. Strombidium tipicum RAY LANK., 1874.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro zu sehen.

48. Strombidium shlcatum CALP., et LACH., 1858-61.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

Ordnung: HYPOTRICHA STEIN.

49. Peristomus emmoe STEIN, 1862.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

50. Amphista crassa CL. et LACH., 1858.

Haeufig im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro beobachtet, das im Laboratorium aufbewahrt wurde.

51. Amphista diademata REES, 1884.

Ist haeufig gesehen worden im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro das im Laboratorium aufbewahrt wurde.

52. Stichochaeta pediculiformis COHN, 1866.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

53. Actinotricha saltans COHN, 1866.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

54. Euplotes charen (O. F. M., 1786).

55. Euplotes harpa STEIN, 1859.

Diese beiden Arten sind in Mengen im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro vorhanden, und vermehren sich stark, wenn sie im Laboratorium aufbewahrt werden.

56. Diophrys appendiculatus (STEIN,

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

57. Uronychia transfuga (O. F. M., 1777).

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

58. Aspidisca lynceus (O. F. M., 1786.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, vorhanden.

Ordnung: *Peritricha* STEIN.

59. Linophora auerbachi (COHN, 1866.)

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro, gefunden.

60. Zoothamnium elegans D'UDEKEM, 1864.

Im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

Unterklasse: SUCTORIA CLAP., te LACHM.

61. Acineta tuberosa EHRB., 1838.

Selten im Meerwasser der Bucht von Rio de Janeiro.

Erklaerung der Tafeln. 23—25.

Fig. 1—*Paramoeba schaudinni nov. sp.* im frischen Zustande beobachtet. Der Kern und der Nebenkern (Nebenkoerper) sind sichtbar; grosse Vakuolen im Endoplasma. Groesse des Rhizopodem: 15 *Mikra* zu 12.

Fig. 2—*Paramoeba schaudinni* nach HEIDENHAIN gefaerbt. Der Kern ist in Ruhezustand und der Nebenkern in Teilung. Masse: 22 *Mikra* Laenge zu 10 *Mikra* Breite; Kern: 3,5 *Mikra;* Karyosom 2,5 und Nebenkern 4 zu 2 *Mikra.*

Fig. 3—Nebenkernteilung der *Paramoeba schaudinni.* Masse: 17 *Mikra* zu 12,5; Kern 4,5 und Nebenkern 3 *Mikra.*

Fig. 4—*Paramoeba schaudinni* in Kernteilung; Aequatorialplatte. Masse: 17 *Mikra* zu 14.

Fig. 5—Kernteilung des Rhizopoden; Spindel mit zwei Polarplatten. Nebenkern in Teilung. Laenge: 15 *Mikra.*

Fig. 6—Zwei Kerne im Ruhezustand und zwei Nebenkerne bei der Teilung.

Fig. 7—Dasselbe ein wenig auseinander.

Fig. 8—Ein Kern im Ruhezustand, und zwei Nebenkerne. Fruehteilung der Nebenkerne. Laenge: 10 *Mikra.*

Fig. 9—Kleine Formen der *P. schaudinni* mit 6 bis 7,5 *Mikra* Durchmesser. In allen diesen Exemplaren sieht man den Kern im Ruhezustand und den Nebenkern bei der Teilung.

Fig. 10—Karyogamie (?) oder Degeneration (?) der *P. schaudinni nov. sp.*

Fig. 11—*Paramoeba schaudinni* die vier kleine Exemplare derselben Art in ihrem Innern enthaelt. *Innere Knospung* oder *Kanibalismus?*

Das grosse Exemplar ist 17,5 *Mikra* lang, bei 12 *Mikra* Durchmesser.

Fig. 12—*Cruzella marina nov. gen. et nov. sp.* Pflanzliche Form des Fagellaten; gefaerbt nach HEIDENHAIN.

Fig. 13—Kernteilung der *Cruzella marina* in heidenhainscher Faerbung.

Fig. 14—*Cruzella marina.* Kernteilung in Telophase, Basalkoerperchen, die schon geteilt sind, und durch Centrodesmosen verbunden werden. Aus jedem Basalkoerperchen stammt eine Geissel.

Die Zeichnungen der Figuren 12, 13 und 14 wurden mit Okular 12 und Immer.—Obj. 1,5 angefertigt.

Fig. 15—*Colponema globosum nov. sp.* im frischen Zustande gezeichnet mit Okular Leitz N. 4 u. Immers. Obj.—Zeiss 1,5

Fig. 16—*Eutreptiella marina* CUNHA, 1913 im frischen Zustande gezeichnet.

Fig. 17—*Marsupiogaster picta nov. sp.* im frischen Zustande gezeichnet.

Fig. 18—*Wissotzkia sp.;* im frischen Zustande mit Ok. 4 u. Immer.—Obj. 1/12 gezeichnet.

Fig. 19—*Carteria sp.* im frischen Zustande gezeichnet.

Fig. 20—*Carteria sp.* im frischen Zustande gezeichnet. Groesse 10 *Mikra* zu 7.

Fig. 21—*Carteria sp.* Vermehrung in der Cyste. Zeichnung im frischen Zustande. Groesse der Cyste: 14 *Mikra* zu 10.

Fig. 22—*Exuviella sp.* von vorne gesehen; im frischen Zustande mit Ok. 5 und Imm.—Obj. 1,8 gezeichnet.

Fig. 23—*Exuviella sp.* Seitenansicht.

Im frischen Zustande mit Ok. 5 und Immer.—Obj. 1,8 gezeichnet.

Fig. 24—*Prorocentrum sp.* im frischen Zustande gezeichnet.

Fig. 25—*Dysteria brasiliensis nov. sp.* im frischen Zustande mit Ok. 4 u. Obj. 4 mm. gezeichnet.

Fig. 26—*Dysteria compressa* GOUR. *et* ROESER, 1888 im frischen Zustande mit Ok. 4 u. Imm.—Obj. 1,5 mm. gezeichnet.

Fig. 27—*Trochilia sigmoides* DUJ. 1841. Ventrale Seite. Masse: 21 14; Mund: 12 *Mikra;* Schwanzverlaengerung: 4 *Mikra.* Im frischen Zustand gezeichnet.

Fig. 28—*Trochilia sigmoides* DUJ. 1841, Dorsale Seite. Masse 17 zu 11 *Mikra.*

Firn. 29 bis 32—*Trochilia sigmoides* DUJ. 1841. Praeparate durch HEIDENHAIN gefaerbt. Die in den Fig. 31 und 32 dargestellten Exemplare befinden sich bei der Teilung.

Fig. 33 — *Protocruzia pigerrima* (COHN, 1866, FAR., C. *et* P. 1922. Im frischen Zustand gezeichnet. Masse 21 zu 11 *Mikra.*

The Wassermann Test in Leishmaniosis

by

DR. ANTONIO EUGENIO DE ARÊA LEÃO

Leishmaniosis americana is taken to be one of the diseases in which the WASSERMANN test is frequently positive. This would appear, however, to be the result of erroneous observation, probably on cases having suffered from syphilis and in whom the disease was either not identified or not looked for. The same might perhaps be said of many other diseases, malaria, measles, scarlet fever etc. in which positive results have also been reported. Of these we will treat later but we are already entitled to assert, even though our statistics are still small, that we only obtained positive results on patients of scarlet fever measles or malaria that also suffered from syphilis. We will later submit proofs and arguments.

Syphilis is sometimes difficult to diagnose, inasmuch as the patients deny suffering from it. But after a positive test carried out with care, syphilis should be looked for by every other means possible.

The WASSERMANN test, although not based on a specific reaction, is positive in an enormous number of cases in syphilis. The reaction reveals the modifications introduced in the contaminated organism by the disease: a well done specific treatment makes them disappear sooner or later. For these reasons, and although we do not know the fundamental cause, the WASSERMANN test preserves a certain specificity in syphilis.

In how many cases in which it was impossible to diagnose syphilis clinically has not the WASSERMANN test aided in establishing a diagnostic which followed by specific treatment resulted in considerable improvements in the patient's health? As it is a very complex reaction, which depends on numerous elements, it is necessary that they should all be perfectly titrated: only like that can the results be relied on.

The differences in results of different authors are certainly due to the different technic used by each one. If the test is carried out under the same conditions and with the same technic it will give the same results even if done by different workers.

It is extremely necessary to use

more than one, and at least three antigens in the reaction, all of them titrated and studied as to their fixing power: the WASSERMANN test should never be practised with one antigen, because this might bring about grave errors. Cholesterinised antigens should be used with care and cholesterinising should be made by a previous titiation with known sera and comparatively with antigens already tried: thus the optimum quantity of cholesterin to add to a given volume of antigen is reached. This titration is lengthy and the antigen must only be made use of after it has been well verified with numerous known sera and compared with antigens already tried.

———

We tested the serum of 60 patients of Leishmaniosis americana in the 19th Ward of the Santa Casa de Misericordia of Rio de Janeiro, thanks to the courtesy of the chief, Prof. Dr. FERNANDO TERRA to whom we are very much indebted for his kindness.

In all patients we searched for syphilis most painstakingly, so as to be able to come to exact conclusions.

The clinical diagnostic of leishmaniosis, especially in the mucous form of the disease, lends itself to confusion with syphilis in its similar lesions: it is a capital fact that syphilis attacks the bony tissue whereas leishmaniosis may destroy the tissues and the cartilage but always leaves the bone intact.

The clinical precedents of each of the cases of great importance in revealing or excluding concomitant syphilis.

The serologic examination renders, we think, invaluable services, for out of the 60 cases we observed, not a single one of pure leishmaniosis, free from syphilis deviated the complement when mixed with the antigens used in the WASSERMANN test.

Technic employed in carrying out these reactions.

Antigens:—The antigens used were six in number: luetic liver (alcoholic extract of liver of fœtus with hereditary syphilis); human heart (cholesterinised alcoholic extract); ox-heart (cholesterinised alcoholic extract); antigens of acetone-insoluble lipoids, according to NOGUCHI's technic; antigen of BORDET and RUELENS (used in the Pasteur Institute of Brussels, a modification of NOGUCHI's process of extracting acetone-insoluble lipoids); antigen of LESSER(ethereal extract of ox-heart). Acetone-insoluble lipoids, both for NOGUCHI's and for BORDET and RUELENS' process were extracted from ox-heart.

All these antigens were perfectly known having been tried on numerous known syphilitic and known normal sera. Nevertheless, to make sure, they were all titrated again on the day of the reaction as to their inhibitory power and controlled with known positive and known negative sera. For verifying the inhibitory power we used two or three times the dose employed in reactions together with a fixed dose of complement and sheep-corpuscles sensitised with two or three hemolysing units.

Complement:—We employed fresh guinea-pig serum; to obtain a more homogeneous complement we employed from eight to ten guinea-pigs which were bled on the same day the reaction was carried out. Complement titration was done by mixing with a fixed dose of hemolysins and the dose of antigen to be used in the reaction.

Hemolytic system:—Rabbit anti-red corpuscles of sheep, the potency of the serum for the corpuscles being always controlled on the day it is made use of.

We also verified all the other elements, complement, hemolysins, antigens and saline solution, taken one by one and mixed with sheep corpuscles to see

if by themselves they would produce hemolysis.

All these indispensable complementary tests having been performed so as to make sure of the working of all the elements entering into the reaction, we next carried out the test with the serum of the patients of leishmaniosis. These sera were collected, separated from coagulum and inactivated in a water-bath at 56ºC., during half an hour, and were then kept on ice until next day when the test was carried out.

0,2 of serum were placed in each of seven tubes: each of them received 0,2 of a different antigen except the last one which remained as control of serum. We next added the quantity of complement determined by the previous titrations and filled all the tubes up to 2 cc. with saline solution at 0,85 %.

The tubes were then placed in a water-bath at 37ºC. to undergo the first incubation for the space of an hour. An hour after, we added the sheep corpuscles (5 % emulsion in saeine solution) sensitised with 2 to 3 hemolytic units. Reading was done at the end of an hour when controls were completely hemolysed.

With this technic it never happened for serum of patients of leishmaniosis alone, on whom a careful clinical observation had excluded syphilis, to give positive WASSERMANN tests.

Of all the cases we observed, all the ones in which positive WASSERMANN tests were obtained were found to be suffering also from syphilis and specific treatment would support our views. In these cases the ministering of tartar emetic by GASPAR VIANNA's process was not enough to completely cure the patient and specific antisyphilitic treatment would hasten and complete the treatment. This was thus therapeutic proof to confirm the clinical one and the result of the WASSERMANN test. Tartar emetic although taken to be an active cicatrisant has no curative action on syphilitic lesions nor does specific antisyphilitic medication, mercury and arsenicals, cure leishmaniosis. In medical litterature there is no lack of observations of cases of leishmaniosis cured or improved by 914 and even in treatises on pathology 914 is currently prescribed in the treatment of this disease. In leishmaniosis americana we never observed a case to be cured or improved by this treatment: the only patients that profit and profit considerably by this treatment are the ones suffering at the same time from syphilis.

Out of the patients we observed, one of them, the patient of observation 27 died: as this observation is of some interest since it was a case of mixed cutaneous leishmaniosis and terciary syphilis with WASSERMANN test strongly positive with the six antigens used and absence of total hemolysis with all of them, we describe the clinical case and the results of the autopsy carried out in the Department for Pathological Anatomy of the Instituto Oswaldo Cruz by the assistant Dr. CEZAR GUERREIRO to whom we are very much indebted for the information given.

Obs. XXVII.—C. F.—Subject of black colour, with a big ulceration on the nose extending from both sides and destroying the external nostrils: nasal septum destroyed and bony parts of nose affected. From nose ulceration extended to upper lip, which besides oedema, had a circular ulceration 4 centimetres in diameter rounded and with projecting borders. Within mouth could be noted ulceration of tonsils; epiglottis partly destroyed; vocal chords totally ulcerated and destroyed; the patient was almost aphonic, it being almost impossible to perceive his words. Pharynx covered by a big ulceration, of irregular borders, rough and purulent surface. Oesophagus affected in the neighbourhood of the pharynx. On the limbs ulce-

rations of different sizes from three to ten centimetres in diameter. Ulcerations generally rounded and covered with a dark yellow and adhering crust. Below this crust surface was rough and purulent. Ulcerations bled with ease, as soon as the crust was removed and the patients complained of acute pains. Inguino-crural and epitrochlear ganglia swollen in size.

On glans a quite noticeable white scar, from a chancre in the patient's previous history. Smears made with pieces of ulcers and stained by GIEMSA process, revealed numerous leishmanias, either isolated in a microscopic field or else in great numbers parasiting big mononuclear leucocytes and heaped up in their protoplasm, leaving on sight the intensely stained nucleus and the outlines of the protoplasm.

In symbiosis with the leishmanias could be seen in the microscopic field spirilla and fusiform bacilli. We have already seen this fuso-spirillar symbiosis in other lesions besides angina and oriental sore, such as ulcerated epithelioma, blastomycosis, syphilitic or simple chancres etc.

It is probably a factor of contamination, which the ulceration, giving it immediately a phagedenic character and the treatment is very much helped by the local ministration of antiseptics.

We made a biopsy of the ulceration of the nose and the small piece removed was fixed in SCHAUDINN sublimate-alcohol and embedded according to the ordinary methods. The sections stained with GIEMSA, hematoxylin-eosin and VAN GIESON showed numerous leishmanias, sometimes isolated and between the tissue cells as those emigrated from the blood or, more commonly, parasiting the great mononuclear leucocytes.

The patient died when still under treatment and right in the beginning of it from a process of acute miliary tuberculosis as will be seen in the protocol. Let it be remarked in passing, that leishmaniosis in its mucous form, the most serious and resistant to treatment, with its frequent recidives destroying the cartilages of the nose, hindering thereby normal breathing, making breathing through the mouth necessary and attacking all the organs found at the back of the mouth (tonsils etc.) which are the means of defense of the body places the human body in a state of inferiority rendering the invasion by other diseases whose saprophytic germs are found under normal conditions in the mouth (tuberculosis, diphtheria etc.) easy.

Leishmaniosis is not a disease producing by itself death; generally the cases become chronic and when death ensues it is very often due to tuberculosis which finding a favourable ground has developed meanwhile.

———

Autopsy: — Diagnostic: Tuberculosis miliaris acuta pulmonum, hepatis et lienis. Lymphadenitis tuberculosa mesaraica. Enteritis tuberculosa ulcerativa. Pharyngitis ulcerativa. Laryngitis ulcerativa. Oesophagitis ulcerativa. Tracheitis ulcerativa.Syphilis. Cicatrix penis. Perisplenitis chronica. Pleuritis adhesiva sub-acuta. Hypertrophia ventriculi utriusque. Aortitis. Cladis soepti nasis. Ulcus alae sinistrae nasis. (Leishmaniosis). Granuloma nasis (Leishmaniosis). Ulcus labii superioris (Leishmaniosis). Atrophia renum. Ankylostomiasis.

Cadaver of male sex, rather emaciated. Cutaneous teguments black. No oedema on lower limbs. Irregular distribution of hair. Superficial cicatrix of balano-preputial ridge. Inguino — crural ganglia enlarged, gliding under fingers when felt. Small tension of abdomen. Intercostal spaces depressed. Upper lip with a loss of substance affecting the

whole lip: slight depth with granular ground. Nose also with losses in cartilaginous septum. Left nostril with vegetative formations the size of an almond. Right nostril with an ulceration covering it entirely. Both fossae very much narrowed. Cornea transparent pupils equally dilated. Section shows a somewhat reduced fatty stratum, 2 mm. on the abdominal wall, muscular layer 7 mm. Muscles brown, rather dry. In the deeper parts of the abdomen no liquid. Liver reaching beyond xyphoid process 6 cm, covered by costal border at the height of the papilla. Location of diaphragm 6th rib on either side. Pericardium on view in an extension of 9 cm. In the pericardial sac 30 cc. of a serous yellow liquid. Mucous tissue at the base of the tongue reddened with the glandules in evidence. Pharynx with an ulceration covering it completely. Epiglottis with border partly destroyed. Aryteno-epiglottic fold narrowed with granular thickened mucous membrane. Complete destruction of vocal chords: in their place an ulceration of granular ground. Tonsils also ulcerated with almost complete loss of tissue-substance. Oesophagus with the mucous layer of its upper part completely destroyed. Upper third of trachæa with turgid vessels, the upper part swollen and the mucous membrane destroyed. Left lung adhering to the costal pleura in its whole surface by weak fibrous strands. Right lung free, the cavity almost empty. Left lung enlarged, with increased consistency. On section shows a diminute volume of air: distributed all over the tissue whitish nodules, bigger than pin-heads: interstitial part of the nodules of a reddish hue and jelly-like consistency. Pleura covered by a fibrous thickening of jelly-like aspect. Peri-bronchial lymphatic glands enlarged, of dark-coloured tissue. Lower margins of lungs containing a little air and giving a diminished crepitation. Right lung: pleura smooth; under it on lung-tissue several whitened, unequally-sized nodules. The three lobules connected by fibrous strands. At section all the lung-tissue shows nodules similar to the ones of left lung, but sparser: relatively more air is kept in parenchyma. Interstitial tissue also with jelly-like appearance and consistency. Heart not enlarged in relation to stature. Pleural leaf of epicardium smooth. Sub-epicardial fat rather reduced. Right ventricle: endocardium smooth; thickness of ventricle 3 mm: muscle brownish. Right auricle: endocardium smooth: mitral valves not thickened. Spleen adhering strongly to diaphragm and to neighbouring organs by fibrous strands: dimensions at convexity $14 + 10 + 4$. On section splenic pulp of a dark colour; follicular apparatus not perceptible. Supporting apparatus fairly evident: dispersed on pulp, whitish nodules larger than a pin-head and clearly limited in the tissue are to be seen. Liver with strong fibrous connections with diaphragm several vertical indentations. On section lobular outlines faint; a volume of blood kept in the organ; in isolated points, several nodules more or less of the size of a pin-head, clearly limited in tissue. Gall bladder with thin walls containing a few cc. of greenish and fluid bile.

Medulla of both adrenals darkish showing ill-defined whitish spots. Both kidneys somewhat reduced in volume; fibrous capsules easily detachable. On section cortex not much reduced limits between the two layers indistinct. Outline of pyramids slightly injected. Pelvis of kidney narrow; ureter permeable. Bladder contracted containing a few centimeters of cloudy urine. Prostate small whitish. Vesicula seminalis with thin walls freeing, when pressed, a cloudy mucous fluid. Both testes not enlarged; tissue brownish. Tubules not easily isolated. Abdominal aorta with a smooth and shining inner coat. Mesenteric and

mesocolic ganglia enlarged some with the tissue in advanced stage of caseification Mucous membrane of the intestine of a diffuse reddish colour all over: some ankylostoma are to be seen. At the height of jejunum a loss of tissue of 1—4 centimeters with projecting margins and rough ground. In ileum two similar losses close to each other, about 1 centimetre in diameter with projecting borders and a rough ground. Gastric mucous membrane diffusely reddish: no loss of tissue. Skull asymetric with somewhat thickened. walls. Dura mater equally tense on both sides. Menynges of a milkish appearance both at base and in convex part: no granules. Frontal and longitudinal sections show nothing abnormal in brain, cerebellum and medullary bulb. Microscopic sections of organs and ulcerations showed tubercular and syphilitic lesions.

Protocol

Obs. I.—J. M.—Single, 58 years, resident at Rua da Republica, Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Ob. II.—C. G. S.—Brazilian, white, 42 years, single, resident at S. João Marcos, State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. III.—J. P. S.—Brazilian, white, farm-labourer, 44 years, married, resident at Itaperuna, State of Minas Geraes *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative

Obs. IV.—J. S. J.—Brazilian, mulatto, 52 years, single resident at Itaocara, State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. V.—C. P.—Greek, white, workman, 43 years, married, no residence. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. VI.—O. A. S.—Brazilian, white, 34 years, single, resident at Estação do Livramento, State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. VII.—A. M.—Portuguese, white, 60 years, married, mason, resident at Campo Grande. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. VIII.—A. M.—Brazilian, black, single, 26 years, mason, resident at Rua Conselheiro Octaviano, Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. IX.—O. A. S.—Brazilian, white, 34 years, single, workman, resident at Estação do Livramento, State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. X.—M. B. O.—Brazilian, white, 60 years workman, resident at Lençóes do Rio Verde, State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea; syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XI.—M. A. L.—Brazilian, white, 32, years, married, workman, resident at Rua Paysandú 18, Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XII.—J. F. A.—Brazilian, mulatto, 35 years, married, workman, resident at Santa Isabel. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XIII.—A. M.—Turk, white, 35 years, single, grocer, resident at Rua Buenos Ayres 348, Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XIV.—A. F.—Brazilian, white, 19 years, married, shoemaker, resident at Rua Tavares 276, Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XV.—A. B. O.—Brazilian, white, 30 years, single, no residence. *Leishmaniosis tegumentaria mucosa: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XVI.—L. L.—Portuguese, white, 42 years, married, workman, resident at Campinas, State of S. Paulo. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea: syphilis.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XVII. — Brasilian, black, 45 years, single, workman, resident at Triagem, Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XVIII.—A. M. G.—Portuguese, white, 63 years, single, workman, resident at Rua Theophilo Ottoni, Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XIX.—A. R. L.—Brazilian, mulatto, 22 years, single, workman n resident at Estação Lagão, State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XX.—M. A. L.—Brazilian, white, 23 years, married, resident at Therezina, State of Piauhy. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XXI.—O. S. A.—Brazilian, white, 35 years, married, resident, State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXII.—M. S.—Brazilian, black, 35 years, single, resident at Itaborahy *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXIII.—C. J. S.—Brazilian, mulatto, 56 years, single, resident at Saquarema, State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XXIV.—A. F.—Brazilian, white, 22 years, single, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXV.—J. F. A.—Brazilian, white, 32 years, single, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXVI.—A. M. G.—Portuguese, white, 60 years, single, workman, resident at Bauru, State of São Paulo *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXVII.—C. F.—Brazilian, black 50 years, single, workman, resident in State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria: tuberculosis miliaris acuta.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XXVIII.—J. C.—Brazilian, black, 28 years, single, farm-hand, resident in the State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXIX.—J. F. S.—Brazilian, white, 20 years, single, sawyer, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXX.—J. S.—Turk, white, 33 years, married, resident at Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXXI.—J. G. S.—Brazilian, black, 25 years, single, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXXII.—C. J.—Brazilian, white 27 years, single, resident in State of Minas Geraes: *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXXIII.—M. P.—Brazilian, white, 32 years, married, resident in Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXXIV.—M. L.—Brazilian, black 24 years, single, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXXV.—F. I.—Brazilian, white, 35 years, single, resident in State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXXVI.—J. C.—Brazilian, whi-

te, 39 years, single, resident in State São Paulo. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.*. WASSERMANN test: Positive.

Obs. XXXVII.—A. C. M.—Portuguese, white, 45 years, married, resident at Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XXXVIII.—A. F. F.—Brazilian, white, 24 years, single, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XXXIX.—A. N. O.—Portuguese, white, 32 years, single, resident in Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XL.—B.R.—Brazilian, white, 19 years, single, resident in State of Rio. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis hereditaria.* WASSERMANN test: Positive.

Ob. XLI.—C. G. J.—Italian, white, 27 years, married, resident in State of São Paulo. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XLII.—J. Z.—Italian, white, 34 years, married resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XLIII.—J. M.—Brazilian, black, 28 years, single, resident in Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XLIV.—G. N. O.—Brazilian, white, 48 years, single, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XLV.—A. C.—Portuguese, white, 50 years, single, resident in Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XLVI.—A. J. C.—Portuguese, white, 42 years, single, resident in Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XLVII.—M. G. G.—Brazilian, black, 29 years, single, resident in State of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. XLVIII.—S. P.—Brazilian, white, 36 years, single, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. XLIX.—G. N. O.—Brazilian, white, 50 years, married, resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Ob. L.—P. A.—Portuguese, white, 28 years, single, resident in Federal District. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. LI.—A. G.—Brazilian, white, 34 years, single, resident in Federal District, *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. LII.—M. F. P.—Portuguese, white, 40 years, single resident in State of Rio de Janeiro. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. LIII.—P. A. C.—Brazilian, white, 36 years, married, resident in State of Parahyba. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. LIV.—A. P. M.—Portuguese, white, 40 years, single, resident in State of São Paulo. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. LV.—J. G.—Brazilian, black, 36 years, single, resident in State of Espirito Santo. *Leishmaniosis tegumentaria mixta.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. LVI.—M. N.—Brazilian, black, 24 years, single, resident in State of Paraná. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. LVII.—A. W. M.— American,

white, 38 years, single, no residence. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test: Negative.

Obs. LVIII.—F. S. T.—Brazilian, white, 49 years, married, residen in State of Bahia. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea: syphilis.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. LIX.—P. A. O.—Brazilian, black, 34 years, single, resident in State of Matto Grosso. *Leishmaniosis tegumentaria mixta: syphilis tertiaria.* WASSERMANN test: Positive.

Obs. LX.—M. E. F.—Brazilian, black, 31 years, married, resident in state of Minas Geraes. *Leishmaniosis tegumentaria cutanea.* WASSERMANN test:. Negative.

Conclusions.

The serum of patients of *Leishmaniosis americana,* in any of its clinical forms, cutaneous, mucous or mixed, does not deviate the complement when mixed with the antigens usually employed in WASSERMANN test.

In the cases in which positive results are obtained with WASSERMANN tests on the sera of patients of this disease, syphilis exists simultaneously.

Contributions à l'étude de faune helmintholo-gique du Brésil. XVII.

Gorgoderidae brésiliennes.

par le

Dr. Lauro Travassos.

(avec les planches 26—30)

Dans un travail, présenté à la Société Brésilienne des Sciences, en juin 1920, j'avais passé en revue les espèces brésiliennes de la famille *Gorgoderidae,* mais ce travail ne pouvait pas être accompagné de figures et ne fut publié qu'en janvier 1922 dans le «Brazil-Medico».

Après la présentiation de ce travail, j'ai encore augmenté mon matériel, et j'ai reçu, par l'amabilité du Dr. v. CLEAVE, le travail de LINTON, dans lequel cet auteur établit le genre *Xystretum.*

Ainsi mon présent travail n'est que le travail antérieur, seulement plus développé, plus complet et bien illustré.

La famille *Gorgoderidae* LOOSS 1901 se caractérise principalement par les vitellogènes, presque toujours réunis en deux masses glandulaires, généralement arrondies, lobées ou ramifiées, ou, plus rarement, en grappes; ces vitellogènes sont pour la plupart intra-cécaux, quelquefois cécaux ou extra-cécaux. Les testicules sont généralement cécaux ou extra-cécaux, et peuvent être constitués par deux masses glandulaires rondes ou ramifiées, ou par un grand nombre de glandes, disposées en grappes ou en série. L'ovaire, rond ou lobé, est toujours pré-testiculaire ou post-acétabulaire. La bourse de cirre ou manque ou n'est que rudimentaire; rarement il a un cirre protatil.

Le pore génital est médian, pré-acétabulaire, bifurcaire ou post-bifurcaire.

Les coecums sont généralement larges, longs ou courts. Le pharynx ou manque ou n'est que rudimentaire. L'appareil excréteur, connu seulement pour un petit nombre d'espèces, est généralement constitué par une vésicule grande,

plus ou moins irrégulaire, où les lacunes collectrices viennent s'ouvrir.

L'habitat est la vésicule biliaire ou la vésicule urinaire.

Cette famille est constituée par trois sous-familles: *Gorgoderinae, Anaporrhutinae* et *Callodistominae*. Dans mon travail antérieur j'y avais ajouté une quatrième, les *Isoparorchinae*, mais j'ai vérifié plus tard que cette dernière doit faire part des *Hemiuridae*.

Jusqu'à un certain point ce groupe s'approche des *Zoogonidae* par l'aspect général, et en est même très voisin par quelques de ses genres, par exemple, par le *Lecithostaphilum* (fig. 17).

Jusqu'à présent, cette famille n'est représentée au Brésil que par 4 espèces, dont une mentionnée par DIESING, une autre par BRAUN et deux par moi. Il est, toutefois, évident qu'avec la continuation des recherches son nombre augmentera beaucoup,

Dans le présent travail je suivrai l'orientation du travail antérieur sur la même matière; je donnerai une clef générale de sous-familles et de genres, suivie par une liste d'espèces avec la description des espèces brésiliennes.

La clef sera éclaircie par un schème démonstratif des divers genres ainsi que des genres *Isoparorchis* (fig. 16) et *Lecithostaphilum* (fig. 17).

Clef des sous-familles et des genres.

1—Vitellogènes lobés ou ronds; testicules dans l'aire intracécal.
Gorgoderinae

A—Corps cylindrique.

B—9 Testicules:
Gorgodera (Fig. 10)

B'—2 Testicules:
Gorgoderina (Fig. 11)

A'—Corps plat:

C—Coecums fondus postérieurement:
Macia (Fig. 8)

C'—Coecum?, face abdominale avec un disque saillant strié;:
Xystretum (Fig. 9)

C"—Coecums pas fondus postérieurement:

D—Vitellogènes dans la zone ovarienne ou post-ovarienne;
Catroptoides (Fig. 7)

D'Vitellogènes pré-ovariens:
Phyllodistomum (Fig. 6)

11—Vitellogènes ramifiés ou en grappe; testicules intra-cécaux ou extra-cécaux;

a—Testicules ramifiés ou dédoublés:
Anaporrhutinae

b—Testicules ramifiés, dans l'aire cécale:
Plesiochorus (Fig. 5)

b'—De nombreux testicules, dans l'aire cécale ou extra-cécale:

c—Vitellogènes extra-cécaux:
Probolitrema (Fig. 4)

c'—Vitellogènes intra-cécaux:

d—Testicules dans l'aire cécale, intra-cécale et extra-cécale:
Anaporrhutum (Fig. 1)

d'—Testicules dans l'aire extra-cécale:

e—Testicules grands, deux ou trois de chaque côté.
Petalodistomum (Fig. 3)

e'—Testicules petits, très nombreux:
Staphylorchis (Fig. 2)

a'—Deux testicules ronds:
Callodistominae.

aa—Testicules extra-cécaux:
Callodistomum (Fig. 12)

aa'—Testicules intra-cécaux:

bb—Coecums courts; l'extrémité céphalique a une conformation péculière:
Thaumatocotyle (Fig. 14)

bb'—Coecums longs, l'extrémité céphalique normale:

cc—Corps étroit; les vitellogènes ont peu de follicules:
Cholepotes (Fig. 15)

cc'—Corps large; vitellogènes ont grand nombre de follicules:
Prosthenhystera (Fig. 13)

Liste des espèces

Gorgoderidae LOOSS, 1901.

Gorgoderinae LOOSS, 1899.

Gorgodera LOOSS, 1899.

Gorgodera cygnoides (ZEDER, 1800) type.
Gorgodera amplicava LOOSS, 1899.
Gorgodera loossi SSINITZIN, 1905.
Gorgodera pagenstecheri SSINITZIN, 1905.
Gorgodera varsoviensis SSINITZIN, 1905.
Gorgodera australiensis JOHNSTON, 1912.
Gorgodera minima CORT, 1912.
Gorgodera circava GUBERLET, 1920

Gorgoderina LOOSS, 1902.

Gorgoderina simplex (LOOSS, 1899) type.
Gorgoderina vitellilobata (OLSSON, 1876).
Gorgoderina translucida (STAFFORD, 1902).
Gorgoderina opaca (STAFFORD, 1902).
Gorgoderina attenuata (STAFFORD, 1902).
Gorgoderina parvicava TRAVASSOS, 1920 (Figs. 18—20).

Longueur: 6 à 11 mm.; largeur 1 à 2 mm. Corps fusiforme, atténué vers les extrémités; en vie, couleur de rose; cuticule lisse, sans épines; ventouse orale grande, forte, sous-terminale, mesure plus ou moins 0,47 à 0,70 mm. de diamètre chez les exemplares longs comprimés; pharynx manque; l'oesophage en forme de Y, peu musculeux, mesure plus ou moins 0,17 à 0,47 mm.; de longueur; coecums larges, s'étendant jusqu'à près de l'extrémité postérieure du corps; l'acétabulum musculeux, petit, mesure plus ou moins 0,31 à 0,56 mm. de diamètre; pore génital médian; au-dessous de la bifurcation oesophagienne; bourse de cirre manque; il y a un long canal à parois peu nettes: le canal éjaculateur, qui communique la vésicule séminale, située dans la région dorsale, avec l'atrium; la vésicule génitale à parois peu différenciées, peu volumineuse; le canal éjaculateur mesure plus ou moins 0,78 mm.; de longueur; testicules éloignés l'un de l'autre, intracécaux, dorsaux, ellipsoides, mesurent respectivement: l'antérieur plus ou moins 0,52 à 0,87 mm. sur 0,31 à 0,71 mm.; le postérieur 0,61 à 1 mm.; sur 0,31 à 0,78 mm.; ovaire ellipsoide, pré-testiculaire, partiellement dans le champ testiculaire, post-acétabulaire, avec la zone en contact avec celle des vitellogènes, mesure plus ou moins 0,45 à 0,64 mm. de longueur sur 0,26 à 0,43 de largeur maximum; vitellogènes ellipsoides, à contours réguliers, pré-ovariens, au-dessous de la glande coquillière; ils mesurent plus ou moins 0,28 à 0,40 mm.; de longueur sur 0,14 à 0,28 mm.; de largeur maximum; ils se communiquent avec la glande coquillière par un court canal en forme de Y; la glande coquillière au-dessus de la zone des vitellogènes et au-dessous de la zone acétabulaire, mesure plus ou moins 0,15 à 0,26 mm.; de longueur sur 0,08 à 0,17 mm. de largeur maximum; l'utérus avec de nombreuses circonvolutions, occupant toute la portion post-ovarienne du corps, soit dans l'aire extra-cécale, soit dans l'aire intra-cécale; au-dessus de l'ovaire les circonvolutions utérines se font plus nombreuses et sont pleines d'oeufs murs jusqu'à un peu au-dessus de la zone acétabulaire, où elles diminuent de diametre, pour constituer un vagin peu musculeux, qui s'ouvre dans un atrium court; oeufs de plus ou moins 0,039 à 0,042 mm.; de longueur sur 0,028 mm. de largeur maximum.

Habitat: Vésicule urinaire du *Leptodactylus ocelatus*.

Prov.: Manguinhos, Angra dos Reis, São Paulo (Institut Bactériologique). J'ai

trouvé cette espèce, à Manguinhos, parasitant des grenouilles, bien que pas fréquemment, mais quelquefois en grand nombre. A Angra dos Reis, j'ai une fois recontré de nombreux exemplaires, dont quelques-uns très grands. Dans du matériel, envoyé par l'Institut Bactériologique de S. Paulo, et cueilli par M. le Dr. A. LUTZ, j'ai aussi trouvé des exempaires de cette espèce, rotulés: *Distoma cygnoides*. C'est aussi dans cette espèce qu'il faut placer le *Pleorchis cygnoidse* GALLI-VALERIO, 1909.

L'espèce brésilienne se distingue de toutes les autres espèces de ce genre par la dimension réduite del'acétabulum en comparaison de la ventouse orale.

***

Cuticule et corps.—La cuticule est dépourvue d'épines. La musculature du corps est faible, un peu plus condensée près de la cuticule, la portion interne étant constituée par un réseau de fibrilles à mailles très larges, où se trouvent de grandes ccellules. L'acétabulum est constitué par des fibrilles très éloignées les unes des autres, et peu différenciées.

Appareil digestif.—La ventouse orale est forte, avecc des fibres radiaires et quelques fibres annulaires; son structure est forte, mais la musculature n'est pas exagérée. Elle est immédiatement suivie par l'oesophage, sinueux et court, et absolument dépourvu de pharynx.

Autour de l'oesophage il y a quelques cellules grandes et piriformes, lesquelles ont probablement une fonction glandulaire.

Le revêtement interne de l'oesophage est fort, et bien épais; la portion musculaire de la paroi est relativement mince. L'intestin est la continuation de l'oesophage sans transition nette, et présente un revêtement interne plus mince que le dernier.

Appareil reproducteur: Le pore génital donne accés à un vestibule courte, à l'atrium génital, où s'ouvrent les canaux mâle et femelle, dont le premier est antérieur et l'autre postérieur. Le canal mâle (fig. 19) conduit à un réservoir de spermatozoides, situé dorsalment; il a les parois faibles et une direction ventro-dorsale, et, extérieurement est garni d'un grand nombre de glandes prostatiques. Le réservoir de spermatozoides a les parois très minces, presque nulles, et présente une ouverture antéro-ventrale; qui se communique avec le canal éjaculateur, et une autre, postéro-dorsale, qui se communique avec le canal déférent, lequel, simple au commencement, se bifurque plus en avant pour se diriger aux testicules.

Les canaux déférents sont très minces et à lumière petite. Ils se dirigent d'avant en arrière, dorsalment par rapport aux circonvolutions utérines, et arrivent aux testicules par la face antérieure.

Les testicules sont enveloppés par une mince membrane, et montrent la structure péculière au testicule des trématodes. Chez les individus plus jeunes, il y a dans toute la masse testiculaire un grand nombre de cellules, et chez les individus plus vieux les cellules de la portion centrale se trouvent toutes transformées en spermatozoides, et celles de la périphérie se trouvent encore dans les divisions iniciales.

De l'ovaire, à structure péculière, sort un oviducte, lequel se réunit aux vitelloductes dans la glande coquillière. Cet oviducte est très court et est suivi, sans nette transition, par l'utérus. Dans les premières portions de l'utérus les parois sont épaisses et le calibre petit, mais plus en avant, les parois sont minces, et le calibre gros (fig. 19). L'utérus est très sinueux et se dirige premièrement vers la face dorsale jusqu'au voisinage de la cuticule; ensuite il se dirige vers l'extrémité postérieure par un

des côtés du parasite en formant beaucoup de circonvolutions, jusqu'a atteindre l'extrémité postérieure, d'où il se dirige vers l'extrémité antérieure, en occupant le côté opposé du parasite, et aussi la face ventrale. Au niveau de l'acétabulum il forme des circonvolutions très larges et de là en avant il diminue progressivement jusqu'à se transformer en un vagin (Fig. 19) à parois relativament épaisses et pourvues extérieurement de glandes unicellulaires et piriformes. Le vagin termine dans l'atrium, postérieurement à l'ouverture mâle.

Je n'ai pas vu un canal de Laurer, ni réservoir séminal femelle.

Appareil excréteur.—La vésicule est tubulée et unique, à calibre relativement petit. Elle se dirige d'arrière en avant, dorsalment par rapport aux circonvolutions utérines.

En résumé, ce parasite se caractérise par une structure peu musculeuse, et par le grand développement utérin,

Malgré l'évidente parenté entre les genres *Gorgodera* et *Gorgoderina*, et bien que les multiples testicules du genre *Gogodrea*, puissent être considérés, à cause de sa distribution en série, comme des testicules lobés, la nette caractérisation par le nombre différent de testicules, toujours constant et sans formes intérmediaires, est pour moi hors de doute.

Phyliodistomum BRAUN, 1899.

P. folium (OLFERS, 1816) type.
P. conostomum (OLSSON, 1876).
P. patellare (STURGES, 1897)
P. acceptum LOOSS, 1901.
P. unicum ODHNER, 1902.
P. linguale ODHNER, 1902.
P. americanum OSBORN, 1903.
P. superbum STAFFORD, 1904.

Catroptoides ODHNER, 1902 in LOOSS.

Catroptoides spatula (ODHNER, 1902) type.
Catroptoides spatuliformis (ODHNER, 1902).
Catroptoides macrocotyle LUEHE, 1909.
Catroptoides angulatus (V. LINSTOW, 1907).

Macia TRAV., 1920.

Corps plat, avec un segment conique antérieur, pré-acétabulaire, et un autre, postérieur, circulaire. Ventouse orale grande, circulaire; acétabulum pré-équatorial; pharynx manque; coecums fondus; pore génital médian, au-dessous de la bifurcation oesophagienne; testicules lobés, équatoriaux avec des zones coincidentes et des champs éloignés, ovaire dans le champ d'un des testicules; zone en contact avec celle des testicules; vitellogènes profondément lobés, dans la zone ovarienne, champs séparés, au côté intérieur des champs testiculaires ou, en partie, dans les champs testiculaires; disque ventral strié manque.

Habitat: Vésicule urinaire de poissons.

Espèce type: *M. magna* (MAC CALLUM, 1917).

D'autres espèces: *M. aluterae* (MAC CALLUM, 1917).

Macia pulchra TRAV., 1920.
(Fig. 21 et 23)

Longueur: 4,5 mm.; largeur 3 mm.

Corps plat, délicat, en forme de viole, c'est-à-dire, la portion postérieure est plus ou moins circulaire, tandis que la portion antérieure est conique et étroite; cuticule sans épines; ventouse orale forte, plus petite que l'acétabulum, mesure plus ou moins 0,49 mm.; de diamètre; pharynx manque; oesophage sinueux, large, mesure plus ou moins 0,24 mm.; coecums unis dans l'extrémité postérieure, à grosseur uniforme, mesurant plus ou moins 0,21 de large; acétabulum fort, pré-équatorial, mesure plus ou moins 0,71, et est situé au point de séparation

entre la portion antérieure conique et la portion postérieure circulaire; pore génital, situé immédiatement derrière la bifurcation intestinale; bourse de cirre, mesurant plus ou moins 0,31 mm. de longueur, musculeuse, avec une petite vésicule séminale; testicules lobés et ellipsoides, transversaux, mesurent 0,38 sur 0,29 mm.; et 0,43 sur 0,22 mm.; post-équatoriaux, zones coincidentes, champs éloignés; ovaire rond, mesurant 0,21 mm. de diametre; zone en contact avec la zone testiculaire; champ coincidant avec celui du testicule gauche; vitellogènes équatoriaux, constitués par 3 à 4 lobes digitiformes, mesurant plus ou moins 0,31 sur 0,12 et 0,28 sur 0,08 mm.; champs prochains et situés au côté intérieur des champs testiculaires, zones coincidentes, au-dessus de et en contact avec la zone ovarienne; l'utérus dans l'aure intra-cécale et post-acétabulaire; oeufs de dimensions très variables, dont quelquesuns trés petits malgré l'aspect parfait; les plus grands mesurent plus ou moins 0,051 à 0,057 mm.; sur 0,028 à 0,034 mm. de largeur maximum; les plus petits mesurent jusqu'à 0,026 mm.; de longueur sur 0,015 mm. de largeur maximum; pore excréteur sous-terminal; vésicule excrétoire cylindrique, droite.

Habitat: Vésicule urinaire de *Sperοides testudineus* (L.), « baiacú ».

Provenance: Manguinhos.

Cette espèce est relativement commune dans les « baiacú » de la baie de de Rio de Janeiro. Elle s'approche assez des espèces décrites par MAC CALLUM. Dans un exemplaire j'ai noté une anomalie formée par la suppression d'un des testicules (Fig. 28). L'espèce est très délicate, et, en vie, son corps est translucide, mais pas transparent. Malgré l'étude de quelques dizaines d'exemplaires je n'ai jamais observé une séparation des coecums, lesquels, dû à la faible transparence, du parasite, il n'était pas toujours facile de voir sans l'aide de manipulations techniques. J'ai aussi noté une grande variation des dimensions des oeufs, même des oeufs, apparemment fécondés.

Chez des exemplaires très transparents de cette espèce on peut quelquefois noter un faible commencement de striation, semblable à celle mentionnée pour le genre *Xystretum* et dont je discuterai la valeur systématique d'ici à peu.

Xystretum LINTON, 1910.

LINTON donne la suivante définition de ce genre:

« Cou cylindrique, corps sous-orbiculaire à bords minces, dont la portion centrale est épaisse et sillonnée par de nombreuses stries transversales, peu saillantes; testicules opposés, post-acétabulaires; ovaire pré-testiculaire; vitellogènes médians, situés au-dessous de l'acétabulum et devant les testicules; l'utérus situé au-dessous des testicules; l'ouverture génitale médiane, située au-dessous de la ventouse orale; pharynx manque; les extrémités postérieures de l'intestin très voisines, mais il est impossible de savoir si elles sont fondues ou non ».

L'auteur ne mentionne pas une espèce type, mais comme telle doit, sans doute, être considéré le *X. solidum* LINTON, 1910, décrit antérieurement comme *Distomum sp.* Cet anteur décrit, ensuite, sous le nom de *X. papillosum,* une autre espèce, chez laquelle il ne pouvait voir, comme chez la première, s'il y a fusion intestinale ou non. Dans toutes les deux espèces le disque ventral est très distinct.

Le *X. papillosum* présente de curieuses formations cuticulaires, que LINTON appelle épines; « papillar spines cover the neck and body and line the cavities of the suckers ». Il me semble que ce dispositif péculier suffit pour la caractérisation d'un genre.

Lorsque je présentais en 1920, mon premier travail sur ce groupe de parasites, je n'avais pas encore obtenu le travail de LINTON. Par le travail de cet

auteur je vois que mon genre *Macia* est très voisin du *Xystretum* non seulement par la problable fusion des coecums, mais aussi par la présence, chez *M. pulchra*, d'un vestige de striation, du reste absolument distincte de la formation, décrite par LINTON, à la face centrale, représentée par 3 à 4 lignes, situées de chaque côté, juste au-dessous del'acétabulum, et qui commencent sur le bord du corps pour disparaître plus en avant. Malheureusement l'espèce type du genre *Xystretum* n'a pas été décrite et dessinée d'une manière satisfactoire.

Quant au *X. papillosum* bien décrit et dessiné, la différence générique est parfaitement justifiable.

A défaut d'une bonne figure du *X. solidum*, j'ai tiré mes illustrations du *X. papillosum* (Fig. 22).

Le genre *Xystretum* a les suivantes espèces:

X. solidum LINTON, 1910, type.
X. papillosum LINTON, 1910.

Anaporrhutinae LOOSS, 1901.

Anaporrhutum OFENHEIM, 1900.

A. albidum BRANDS, 1900, type.
A. largum LUEHE, 1906.

Petalodistomum JOHNSTON, 1913.

P. polycladum JOHNSTON, 1913.

Staphylorchis TRAV., 1920.

Anaporrhutinae: corps plat, large; pharynx présent; coecums sinueux sans diverticules; vitellogènes intra-cécaux; testicules extra-cécaux, très petits et nombreux.

Espèce type: *S. cymatodes* (JOHNSTON, 1913).

Habitat: Dans la cavité générale de raies, Autralie.

JOHNSTON place cette espèce dans son genre *Petalodistomum*, mais moi je préfère faire de cette espèce un genre à part, parce qu'elle est plus voisine du genre *Anaporrhutum* que du genre *Petalodistomum*.

La disposition des coecums et des testicules me parait suffisante pour caractériser un genre à part, car entre *Phylostomum* et *Catroptroides* et entre *Gorgodera* et *Gorgoderina* la différence est moindre.

Probolitrema LOOSS, 1902.

P. ricchiardii (LOPEZ, 1888). Type.
P. capense LOOSS, 1902.

Plesiochorus LOOSS, 1801.

P. cymbiformis (RUDOLPHI 1819) Type.
Callodistominae ODHNER, 1911.
Callodistomum ODHNER, 1902.
Callodistomum diaphanum ODHNER, 1902.

Prosthenhystera TRAV., 1920.

Callodistominae: ventouse orale sous-terminale; pharynx très réduit; coecums longs, minces, peu sinueux; bourse de cirre présente, ayant une petite vésicule séminale sans circonvolutions; testicules dans l'aire intra-cécale, équatoriaux, symétriques; ovaire pré-testiculaire, post-acétabulaire; vitellogènes pré-ovariens, dans l'aire intra-cécale et extra-cécale; utérus occupant toute l'extension du corps au-dessous du pore génital et envahissant l'aire extra-cécale à côté de l'oesophage jusqu'à la zone de la ventouse orale; vésicule excrétoire allongée, ample; oeufs avec une nette tache obscure, en forme de 8.

Espèce type: *P. obesa* (DIESING, 1850).

Habitat: Vésicule hépatique de *Salmonidae* de la vallée de Prata et de S. Francisco. Ce genre est très voisin du *Callodistomum*, dont il se distingue par la position intra-cécale des testicules, par l'intestin moins large et pas sinueux, et par la position de l'utérus, qui envahit dorsalment tout le corps, ne laissant li-

bre qu'une petite aire autour de l'oesophage.

P. obesa (DIESING, 1850).

(Fig. 23, 24, 26, 30—32)

Syn.: *Distomum obesum* DIESING, 1850 à p. 361.
Distomum obesum DIESING, 1855, p. 67, pl. III, fig. 11—13.
Distomum obesum DIESING, 1858e, p. 341.
Distomum obesum COBBOLD, 1860a, p. 24.
Distomum obesum COBBOLD, 1879b, p. 458.
Distomum obesum STOSSICH, 1886. p. 53.
Distomum obesum ODHNER, 1902, p. 152.
Posthenhystera obesa TRAVASSOS, 1920 (Soc. brés. des Sc., (Braz. Med. Ann. 36, p. 19, (1922)).

Longueur: 14 mm.; (3 à 7 mm.; DIESING); largeur 8 mm.; (2 à 5 mm.; DIESING). Corps ellipsoide, plat; ventouse orale sous-terminale, forte, mesure plus ou moins 1 à 1,2 mm. de diamètre; pharynx très petit, mesure plus ou moins 0,34 mm.; oesophage mince, mesure plus ou moins 1,3 mm. de longueur; coecums étroits, peu sineux, jusqu'a la zone acétabulaire ils sont plus larges que l'oesophage; mais à partir de là plus étroits; acétabulum pré-équatorial, fort, plus ou moins aussi grand que la ventouse orale, et mesurant plus ou moins 0,95 à 1,3 mm. de diamètre; pore génital médian, situé directement au-dessous de la bifurcation de l'oesophage; bourse de cirre constituée par un noyau musculeux, ellipsoide, transversée, en direction antéro-postérieure, par un étroit canal, dont le tiers postérieur montre une dilatation constituant la vésicule séminale; pénis semble manquer; la bourse mesure plus ou moins 0,6 à 1 mm.; de largeur sur 1,1 à 1,6 mm.; de longueur; testicules relativement petits, ronds, situés dans l'aire intra-cécale, et quelquefois partiellement dans l'aire cécale; ils sont équatoriaux, avec les zones coincidentes et en contact avec celle de l'ovaire; champs éloignés et en contact avec le champ ovarien; les testicules mesurent plus ou moins 0,60 à 0,78 mm. sur 0,52 à 0,59 mm.; ovaire rond, pré-testiculaire, avec la zone peu éloignée de la zone acétabulaire et avec le champ en contact avec celui de l'acétabulum; il mesure 0,87 sur 1 mm.; vésicule séminale présente dans la zone ovarienne; vitellogènes, disposés en deux demi-cercles renfermant l'acétabulum; ils commencent respectivement dans la zone ovarienne et dans l'aire intra-cécale, pour terminer dans la zone de la bourse de cirre et dans l'aire extra-cécale; ils sont constitués par des groupes de petits follicules; glande coquillière post-ovarienne; utérus, très développé, occupe toute la portion post-acétabulaire du corps; dans l'aire intra-cécale et pré-acétabulaire on trouve de grandes circonvolutions larges avec des oeufs mûrs; dans l'aire extra-cécale on trouve des circonvolutions bien au-dessus des vitellogènes, où elles sont moins nombreuses et atteignent la zone de la ventouse orale; oeufs ellipsoides, sans opercule apparente et montrant dans son intérieur une grande tache obscure à contours irréguliers, en forme de 8 ou de V; ils mesurent plus ou moins 0,063 à 0,070 mm. de longueur, sur 0,035 à 0,049 de largeur maximum; vésicule excrétoire allongée, ample, et en forme de Y à branches très courtes.

Habitat: Vésicule hépatique de: *Salminus brevidens* (« dourado ») *Leporinus friderici, Xiphostoma cuviere,* mentionnés par DIESING; *Salminus brevidens, Leporinus sp.* (piaú).

Le matériel de DIESING fut cueilli par NETTERER en Matto-Grosso. Mon matériel consiste de 3 exemplaires, dont un complètement écrasé, le deuxième

aussi bien avarié et le troisième en bon état. Le premier et le troisième furent cuellis sur « dourado » et sont beaucoup plus grands que l'autre, cuelli sur « piaú ». Ils furent cuellis à Porto Tibiriçá par les Drs. LUTZ, FONSECA & ARAUJO. Je possède aussi du matériel abondant cueilli sur «dourado» à Lassance, Minas Geraes, lequel m'a servi pour la description anatomique, que je donnerai maintenant. Récemment j'ai capturé deux beaux exemplaires grands sur *S. brevidens* dans le fleuve Cuyabá-Matto-Grosso.

Cuticule et musculature.—La cuticule est dépourvue d'épines et est relativement épaisse; elle est sensiblement plus épaisse à la face centrale qu'à la face dorsale. La musculature du corps, est forte, toutefois pas très forte. Directement au-dessous de la cuticule il y a une couche de fibres musculaires longitudinales et, au-dessous de cette couche, il y a une autre transversale. Des prolonguments de ces fibres pénétrent dans l'intérieur du corps, où ils forment quelquefois des faisceaux épais.

La musculature de la ventouse est forte, et la majorité des fibrilles est radiaire. Il y a aussi du revêtement musculaire dans les portions terminales des conduits génitaux.

Appariel digestif.—La ventouse orale n'est pas forte et est suivie directement par le pharynx sphérique et peu développé.

La ventouse possède dans son intérieur un très fort revêtement.

L'oesophage est mince, et possède intérieurement un très fort revêtement et extérieurement des fibrilles musculaires et de nombreuses cellules grandes, qui semblent avoir une fonction glandulaire. Directement après la bifurcation oesophagienne on trouve les coecums qui sont minces. Leurs parois se distinguent de celles de l'oesophage par l'absence des cellules extérieures et par la cuticule interne, qui est beaucoup plus épaisse et forme de nombreux plis papillaires.

Appareil reproducteur.—Les testicules, situés latéralement, se trouvent plus ou moins dans la même zone; de chacun d'eux part un canal qui se dirige obliquemment de l'extérieur à l'intérieur et d'arrière en avant, Les canaux se rencontrent un peu en avant de l'aire acétabulaire, où ils se réunissent et pénètrent dans la portion postérieure de la bourse de cirre.

La bourse de cirre est un organe sacciforme, à parois très épaisses. En realité elle n'est pas une bourse de cirre, mais seulement un organe homologue à celle-ci.

Elle est piriforme, ayant la dilatation plus grande dirigée en arrière, ou se trouve une ample cavité, pleine de spermatozoides, et constituant une vésicule séminale mâle; cette vésicule se communique postérieurement avec le canal déférent, et, antérieurement elle se continue dans un fort canal éjaculateur situé au pôle mince de la bourse. Ce ccanal est sineux à parois musculeuses, revêtu intérieurement par une forte cuticule, laquelle est un prolongement de la cuticule externe. En sortant de la bourse, le canal éjaculateur s'unit au vagin, en formant ainsi un canal unique, ou un atrium, de plus ou moins 160 *micra* de longueur sur 60 *micra* de largeur. Cet atrium possède, comme le canal éjaculateur, une forte cuticule, qui est la continuation de la cuticule externe. Il n'y a pas de cirre protactil. Ce dispositif ne se distingue de la *Gorgoderina parvicava* que par la musculature plus grande.

Le vagin, qui prend naissance dans l'atrium, possède une structure très semblable à celle du canal déférent. Il se dirige en arrière, ventralement par rapport à la bourse de cirre, en faisant divers courbes, et constitue ainsi, en s'élargissant, l'utérus. Les premières circonvolutions utérines, situées dans l'aire intracécale, sont grandes, et à parois plus

fortes, tandis que les dernières, en occupant toute l'aire intracécale et extracécale du corps, atteignent la zone pharyngienne, n'épargnant que le champ de la ventouse orale jusqu'à la bifurcation oesophagienne. Ses parois sont minces et faibles.

Les circonvolutions utérines occupent toute l'aire du corps, mais seulement à la face ventrale (figs. 31 et 32), tandis que la face dorsale est occupée par un faible parenchyme, et par la vésicule excrétoire. L'ovaire est situé medianement, et, en général, est bien moindre que les testicules. A'son côté il y a une vésicule séminale, bien moindre que lui, et la glande coquillière. Il y a un canal, de Laurer, qui s'ouvre dorsalement dans la zone ovarienne.

Les vitellogènes, constitués par des groupements bien séparés de follicules glandulaires, ont la structure commune et occupent une bande oblique, qui va dès la zone testiculaires jusqu'au dessus de la zone acétabulaire, et, en commençant dans l'aire intra-cécale, se termine dans l'aire extra-cécale. Le canal excréteur se dirige de dehors à dedans et d'avant en arrière.

Appareil excréteur.—La vésicule excrétoire est constituée par une grande cavité, pliée sur elle-même, de manière que ses parois forment des plis Cette cavité s'étend médianement jusqu'à la zone ovarienne, et présente des diverticules dans la portion antérieure. Ses parois sont fortes et garnies de quelques fibres musculaires.

Cholepotes ODHNER, 1911.

C. ovofarctus ODHNER, 1902.

Thaumathocotyle ODHNER, 1911.

Callodistominae à coecums courts; vitellogènes, pré-testiculaires, ont peu de follicules; testicules intra-cecaux, à champs éloignés et à zones coincidentes en partie, post-acétabuaires, et pré-équatoriaux; ovaire dans le champ du testicule postérieur et dans la zone du testicule antérieur; l'extrémité antérieure a une conformation péculière.

Espèce unique: *T. pulvinata* (BRAUN 1899).

Le nom générique est occupé par SCOTT, 1904. Dans ce sens j'ai écrit à M. ODHNER, mais je n'ai pas reçu de réponse. Je crois, toutefois, que le nom générique a déjà été changé.

Thaumatocolyle pulvinata (BRAUN., 1899).

(Fig. 24, 25, 27—29)

Syn: *Distomum pulvinatum* BRAUN, 1899 e, p. 630.
Distomum pulvinatum BRAUN, 1901 a, p. 24, fig. 18.
Distomum pulvinatum, ODHNER, 1902, p. 153.
Thaumatocotyle pulvinata ODHNER, 1911, Swedish zool. Exp. p. 20. text. f. a—d.

Longueur: 4 mm.
Largeur: 0,9 mm.

Corps aplati, l'extrémité antérieure est large et possue une conformation particulière; l'extrémité postérieure est acuminée; cuticule sans épines. L'extrémité antérieure présente, ventralement par rapport à la ventouse orale, et dorsalement et latéralement deux formations musculaires symétriques.

Ces formations (Fig. 27 et 28) sont représentées par des saillies musculaires, qui prennent naissance aux bords du corps, au niveau de la limite inférieure de la ventouse, et se dirigent en arrière et en avant (Fig. 27); elles sont courbées, antérieurement concaves et se réunissent à la face dorsale (Fig. 28). Ces formations limitent de chaque côté, dans sa concavité, un espace, simulant une pseudo-ventouse et limité, antérieurement par la ventouse orale, et par une saillie musculaire, située au bord de cette ventouse, interprétées par ODHNER comme un organe de fixation.

La ventouse orale mesure plus ou moins 0,47 mm.; de diamètre. Acétabulum pré-équatorial, transversalement allongé. et mesure 0,45 et 0,50 mm. de diamètre.

Pharynx relativement petit, suivant directement la ventouse orale, mesure 0,1 mm.; l'oesophage deux ou trois fois plus long que le pharynx; coecums courts outrepassant à peine l'équateur du corps. Pore génital médian, pré-acétabulaire; bourse de cirre pré-acétabulaire, possédant, dans son intérieur, une vésicule séminale, tubulée, une *pars prostatica* en forme de vésicule, et un cirre très court et fin; testicules sphériques, à champs éloignés et à zones coincidentes partiellement, pré-équatoriaux e immédiatement au-dessous de la zone acétabulaire; canaux déférents quelquefois très nets; ovaire elliptique, dans le champ du testicule droit; sa zone en contact avec celle du testicule du même côté, et coincident avec celle du testicule de l'autre côté; vitellogènes constitués par 8 à 9 follicules, qui s'étendent dès la zone acétabulaire jusqu'à la zone ovarienne, dans les aires cécale et intracécale; ces follicules sont munis de canaux excréteurs très nets, qui se réunissent en deux troncs transversaux, lesquels se terminent dans un réservoir médian; la vésicule séminale petite, située derrière l'acétabulum; utérus constitué par une portion descendante et une portion ascendante, qui se croisent sur la ligne médiane, intercécal dans la portion, où sont situées les coecums, et postérieurement à ces derniers, il s'étend jusqu'au bord du corps.

Oeufs ellipsoides à coque fine, et porteurs de miracidium. pourvu d'une forte tache oculaire (Fig. 29); ils mesurent 0,041 mm.; de longueur sur 0,023 mm. de largeur maximum; les *miracidia* des oeufs de la portion terminale de l'utérus sont déjà libres.

Vésicule excrétoire tubulée, atteignant le testicule antérieur.

Habitat: Tortues fluviales de l'Amazonas.

Cette espèce, décrite premièrement par BRAUN, qui l'a dessinée en 1901, a été étudiée, plus tard, par ODHNER, qui a corrigé la description de l'extrémité antérieure, et décrit la bourse de cirre, et la vésicule excrétoire, en en établissant un genre nouveau de la sous-famille *Callodistominae*.

Ma description et mes figures ont été tirées de celles de BRAUN et de ODHNER. Ni la localisation dans les hôtes, ni les noms scientifiques de ces derniers se trouvaient mentionés sur le matériel.

NOTE.

Isoparorchinae TRAV., 1920.

Corps ovoide; coecums sinueux; pore génital médian; pré-acétabulaire; préequatorial; testiccules ronds, directement au-dessous de la zone acétabulaire, préovariens; ovaire cylindrique, post-équatorial, post-utérin; utérus n'a que peu de circonvolutions minces; vitellogènes ramifiés, post-ovariens, intra-cecaux et extracécaux; vésicule excrétoire avec deux branches, qui accompagnent les coecums.

Genre unique: *Isoparorchis* SOU THEWELL, 1914.

Habitat: Poissons de l'Asie.

Ce genre est synonyme de *Leptolecithum* KOBAYASHI, 1915.

Le travail original de KOBAYASHI a été écrit en japonais, mais postérieurement a été publié en anglais dans le journal «Parasitology», permettant ainsi une complète identification des genres.

Ce genre a l'aspect des *Callodistominae*, mais la disposition et forme curieuses de l'ovaire, ainsi que la position du vitellogène montrent qu'il est un *Hemuiridae;* quant à la vésicule excrétoire, il me semble que SOUTHEWELL a considéré les deux lacunes principales comme en faisant part.

1. trisimilitubis SOUTHEWELL, 1914 (type).

1. eurytrema (KOBAYASHI, 1915).

Je donne ici cette note, parce que dans mon travail antérieur j'ai cité cette sous-famille comme faisant part des *Gorgoderidae*.

Explication des figures.

Planche 26.

Fig. 1. Schème de Anaporrhutum.
« 2. « « Staphylorchis.
« 3. « « Petalodistomum.
« 4. « « Probolitrema.
« 5. « « Plesiochorus.
« 6. « « Phyllodistomum.
« 7. « « Caloptroides.
« 8. « « Macia.
« 9. « « Xystretum.
« 10. « « Gorgoderina.
« 11. « « Gorgodera.
« 12. « « Callodistomum.
« 13. « « Prosthenhystera.
« 14. « « Thaumatocotyle.
« 15. « « Cholepotes.
« 16. « « Isoparorchis.
« 17. « « Lecithostaphilum.

Planche 27.

Fig. 18. *Gorg. parvicava*—totale.
« 19. *Gorg. parvicava*—portion antérieure.
« 20. *Gorg. parvicava* — vitellogènes et glande coquillière.
« 21. *Macia pulchra* — Exemplaire anormal avec un seul testicule.
« 22. *Xystretum papillosum* — selon LINTON.

Planche 28,

Fig. 23. *Macia pulchra*—total (l'échelle correspond à 1 mm.)
« 24. *Prosthenhistera obesa?* total (l'échelle correspond à 1 mm.)
« 25. *Thaumatocotyle pulvinata* — selon BRAUN.
« 26. *Prosthenhystera obesa*—oeufs. (l'échelle correspond à 0,1 mm.)
« 27. *Thaum. pulvinata*—selon ODHNER, face latérale.
« 28. Le même, face dorsale.
« 29. Le même, oeufs, selon ODHNER.

Planche 29.

Fig. 30. *Prosth. obesa*—Section longitudinale montrant la bourse de cirre, la vésicule séminale et l'ouverture génitale avec le confluent du vagin et du canal mâle. On voit aussi une section oblique de l'intestin.

FFig. 31. *P. obesa*—Section longitudinale montrant des sections de l'utérus, vésicule séminale femelle, canal de Laurer, vésicule excrétoire et une partie de l'acétabulum.

Planche 30.

Fig. 32. *Prost. obesa*—Section longitudinale ventro-dorsale, montrant de nombreuses sections utérines, disposées latéralement et ventralement *(ut);* bourse de cirre *(b. cirr.)* et ouverture des canaux déférents *(c. d.);* dans l'intérieur on voit la vésicule séminale *(v. s.);* segments de l'intestin *(int.),* quelques follicules des vitellogènes extra-cécaux et intra-cécaux *(vit.);* vésicule séminale femelle *(rec.);* gland coquillière *(gl. c.);* canal de Laurer *(c. l.);* ovaire *(ov.)* et vésicule excrétoire *(v. excr.).*

Elaps Ezequieli and Rhinostoma bimaculatum, new snakes from the State of Minas Geraes

by

ADOLPHO LUTZ, M. D. and OSWALDO DE MELLO, M. D.

(Instituto Oswaldo Cruz in Rio and Branch in Bello Horizonte)

Amongst the snakes collected by the Bello Horizonte Branch of the Institute Oswaldo Cruz 4 new species were discovered by Dr. OSWALDO DE MELLO. Two of them were described in the Folha Medica of 1922 (n. 13, p. 97); the descriptions of the other two follows here.

Elaps Ezequieli n. sp.

The only specimen of this kind, apparently a female, was collected in Caxambú, in 1919. The place is in the State of Minas.

The species belongs to the third group, division B, subdivision c, of the key given by *Boulenger* in the Catalogue of Snakes of the British Museum. In general appearance it comes near *E. Marcgravii* but has no anterior temporal, while the groups of rings are more numerous. There are three more species of *Elaps* since described by BOULENGER, viz: *Rosenbergi* (Ecuador), *Simonsi* (Argentine), *omissus* (Venezuela) and one by AMARAL, named *Elaps Fischeri,* from the *Serra da Bocaina* in the State of S. Paulo. (There are also some doubtful forms, mentioned in the *Biologia Centrali-Americana.)* Of those, only *Fischeri* and *Simonsi* come near to *Ezequieli,* but differ by anatomical characters: the presence of an anterior temporal and the symphyseal reaching the anterior chinshields. The following description of the new species shows the other affinities and differences:

Description: Eye half as long as its distance from the mouth. Rostral deeper than broad, the part seen from above a little longer than half its distance from the frontal. Internasals shorter than broad, as long as the prefrontals. Frontal longer than broad, shorter than the parietals which are not as long as their distance from the end of the snout. One preocular, in contact with the posterior nasal; two postoculars, the su-

perior somewhat larger. No anterior and one posterior temporal. 7 supralabials, the third and the fourth entering the eye, the former only in a point, the latter forming the whole of the lower margin; the sixth much larger than the others and reaching the parietal, the seventh well developed. Symphyseal not reaching the anterior chin shields. 4 infralabials in contact with the anterior chin shields which are shorter than the posterior ones. 15 rows of scales. 226 ventral shields and 22 subcaudal on each side. Anal shield divided.

Body reddish, showing 15 sets of black rings, disposed in three. The middle ring is much wider and separated from the others by unspotted white rings. The red rings between the sets are dotted with black on the upper, unspotted on the under side. In the first group there are only two well developed black rings, the first one being reduced to a few black spots.

The fore part of the head is black above with a crescent shaped white band, concave anteriorly and covering the prefrontals, also on each side the posterior nasal and second superlabial. Above it passes on the anterior margin of the frontal and the posterior of the internasals, laterally on the front margin of the supraocular, the fore half of the preocular and the fore margin of the third supralabial. Behind, the upperside of the head is red, dotted with black spots, two larger ones situated on the apex of the parietals. Below the head is red, dotted with black, the symphyseal and the first infralabials on each side entirely black. A narrow, unspotted, white ring separates the head from the body. Tail with black apex, the rest as on the body.

Total length 670, length of the tail 40 mm.

This species is dedicated to the memory of Dr. EZEQUIEL DIAS who founded and directed the Branch Institute in Bello Horizonte and established the prophylaxis of poisonous snakes and scorpions in the State of Minas.

Rhinostoma bimaculatum n. sp.

Maxillary teeth subequal, 10 + 2. Mandibulary teeth subequal. Eye small. Pupil vertically elliptic. Snout short with parabolic anterior outline, slanting upwards. Inferior plane of rostral longer than the superior which shows a blunt keel. Internasals broader than long and shorter than the prefrontals. Frontal longer than broad, equal to the distance from the end of the snout and to the length of the parietals. No frenal. One preocular much shorter than the supraocular, which is very narrow and half as long as the frontal; 2 postoculars. Temporals 2 + 2. 8 supralabials, third, fourth and fifth entering the eye, second and third touching the prefrontal. Four lower labials in contact with anterior chin shields, which are equal in length to the posterior ones. Scales smooth, with apical pits, forming 19 longitudinal rows. Ventrals 164. Anal undivided. Subcaudals 40 on each side (the last ones not distinct). Tail tapering.

Body above reddish; just behind the neck, two spots of 5 mm. in width and 10 in length, consisting of 4—5 rows of blackish scales, separated by the median row. Scales of the back with apex infuscate. Belly, 3—4 rows of lateral scales and supralabials altogether white. Colouring of the tail equal to that of the body.

Total length 510, length of the tail 75 mm.

Collected in Pirapora, State of Minas Geraes, in the collection of the Branch Institute in Bello Horizonte.

This species is separated from *guianense* and *vittatum* by lacking a frenal. It stands near to *Iglesiasi* but differs by

having 3 supralabials entering the eye and 2 anterior temporals.

Follows a list of the differential characters in the 4 species of the genus *Rhinostoma*.

	Iglesiasi	bimaculatum	vittatum	guianense
Rostral	no keel	keel present	keel present	
Frenal	none	none	present	present
Temporals	1+2	2+2	2+3	2+3
Internasals	as long as broad	broader than long		
Frontal	as long as broad, shorter than parietals	longer than broad, as long as parietals		
Preocular	nearly equal to supraocular	much smaller		
Supralabials in contact with eye	4th, 5th	3d, 4th, 5th	4th, 5th	4th, 5th
Head	with dark spots	no spots		
Ventrals	169	160	199—226	168—209

Rio de Janeiro, 10—XI—922.

Explanation of drawings.

Fig. 1-4—*Elaps Ezequieli.*
Fig. 1—Dorsal view.
Fig. 2—Lateral view.
Fig. 3—Ventral view.
Fig. 4—Ventral view of tail.
Fig. 5-7—*Rhinostoma bimaculatum.*
Fig. 5—Dorsal view.
Fig. 6—Ventral view.
Fig. 7—Lateral view.

BIBLIOGRAPHY.

1) BOULENGER, 1896— Catalogue of Snakes of the British Museum.

2) BOULENGER, 1898— Elaps Rosenbergi, in Proc. Zool. Soc. London, p. 117.

3) BOULENGER, 1902— Elaps Simonsi, in Ann. Mg. Nat. Hist., s. 7, v. 9, p. 338.

4) BOULENGER, 1920— Elaps omissus, in Ann. Mg. Nat. Hist. s. 9, v. 6, p. 108.

5) AMARAL, 1921— Elaps Fischeri, in Annexos das Memorias de Butantan, v. I, fasc. I, p. 15.

6) GUENTHER, 1902— Biologia Centrali Americana.

7) GOMES, FLORENCIO, 1915— Rhinostoma Iglesiasi, in Collectanea dos Trabalhos de Butantan de 1901—1917, p. 270.

Études sur les Blastocystis

par le

DR. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO

Chef de service

L'opinion de la plupart de ceux qui se dédient a l'étude des parasites intestinaux est encore incertaine en ce qui concerne ces formations d'une si curieuse structure connues sous le nom de *Blastocystis* que leur donna ALEXEIEFF en 1911.

Ces parasites, connus depuis longtemps, ont reçu les interprétations les plus variées des différents auteurs qui les observèrent. C'est ainsi qu'on les considéra comme formes d'évolution, d'encystement, d'autogamie ou de dégénération de différents flagellés intestinaux, comme par exemple *Trichomonas, Bodo, Heteromita* etc. (PERRONCITO, KUNSTLER, SCHAUDINN, PROWAZEK, UCKE, CHATTON). D'autres (DOBELL, ALEXEIEFF, BRUMPT) le considèrent comme des champignons. Un troisième groupe ne lui accorde aucune spécificité, admettant qu'on a affaire à des formes d'encystement ou de dégénération d'amibes et d'autres parasites des selles (SWELLENGREBEL, JEPPS et DOBELL) et il y a encore ceux qui n'ont aucune opinion formée à ce sujet.

De toutes ces interprétations celle qui est destinée a prévaloir et qui est aujourd'hui la plus généralement admise considère les *Blastocystis* comme des organismes végétaux entièrement autonomes et du groupe des blastomycètes, avec un cycle tout particulier, et sans aucun rapport avec les flagellés et d'autres parasites rencontrés d'ordinaire dans les selles.

C'est ALEXEIEFF en 1911, qui, le premier, appuya cette opinion sur de solides arguments. Il se fondait sur les résultats obtenus par ses études sur les *Blastocystis* de *Triton marmoratus, Triton cristatus* et de *Salamandra maculosa*.

Les travaux d'ALEXEIEFF, quoique très accomplis, n'obtinrent pas la facile confirmation qu'on aurait pu attendre dans le cas d'un parasite si commun et c'est pour cela que cette question resta assez obscure et imprécise.

La rareté relative des différentes pha-

ses d'évolution du parasite dans le matériel qu'on examine ordinairement, ainsi que le fait qu'on étudie plus souvent les *Blastocystis* de l'homme et des animaux à sang chaud, dont la morphologie et l'évolution, à cause du milieu, son moins typiques que celles des formes analogues d'animaux à sang froid en seraient, selon nous, la cause.

Voilà pourquoi il ne sera possible de faire une étude parfaite de ces parasites qu'à condition d'examiner comparativement le matériel de différents animaux à sang chaud et à sang froid et d'avoir l'occasion de surprendre certains phases d'évolution rarement observées.

C'est grâce à l'étude d'un matériel abondant et varié que nous avons pu vérifier les faits signalés par ALEXEIEFF en les confirmant et, même, sur certains points en les complétant.

Dans ce travail, nous faisons une étude générale des *Blastocystis*, en nous occupant tout spécialement de la morphologie et de l'évolution de ceux de *Rana esculenta* que nous avions observées il y a longtemps à Munich à l'époque ou nous fréquentions l'Institut Zoologique sous la savante direction de RICHARD HERTWIG.

Depuis nous avons eu plusieurs occasions d'étudier le sujet dont nous nous proposons de compléter l'exposé dans un deuxième. travail.

Généralités.

Les *Blastocystis* sont très communs et quelquefois même extrêmement abondants dans les animaux parasités, mais il est assez rare de trouver toutes les phases d'évolution et surtout celles de sporulation dans un même animal.

Les *Blastocystis* vivent dans l'intestin des animaux, surtout dans la portion terminale. Il est intéréssant d'observer la variété de grandeur qu'ils peuvent présenter suivant les conditions du milieu. D'une façon générale les *Blastocystis* sont plus petits dans les selles solides que dans les liquides et aussi d'une taille plus réduite ainsi que d'une structure moins typique chez les animaux à sang chaud que dans les animaux à sang froid. C'est pourquoi nous n'attachons aucune valeur spécifique aux différences de grandeur observées et qui vont fréquemment du simple au double et davantage, soit dans le même animal, soit d'une espèce à l'autre. Ce n'est pourtant qu'après une étude plus approfondie qu'on pourra parvenir à une conclusion définitive à ce sujet. Il nous semble qu'en attendant une meilleure observation de ces parasites, il serait trop tôt pour tenter de résoudre cette question. C'est pourquoi nous ne voyons auccune raison pour admettre 3 espèces différentes (*enterocola, gemmigena* et *sporogyna*) chez l'homme comme l'a proposé tout dernièrement LYNCH dans un travail qui ne nous parait très concluant.

L'étude des *Blastocystis* devra se faire comparativement dans du matériel et des préparations fixées et colorées.

L'éxamen à frais doit être fait entre lame et lamelle ou de préférence en goutte pendante qui a l'avantage de ne produire aucune altération dans la morphologie du parasite comme le fait le premier de ces moyens. Les préparations colorées doivent être faites en fixant au sublimé-alcool et en colorant a l'hématoxyline de HEIDENHAIN des minces frottis du matériel.

Les préparations colorées sont celles qui revèlent le mieux les delirats détails de l'estructure du parasite. Les préparations faites a l'hématoxyline de DELAFIELD ou au GIEMSA n'offrent pas de résultat plus satisfaisant que celles à l'hématoxyline de HEIDENHAIN.

Pendant longtemps les parasitologistes qui étudiaient le *Blastocystis* étaient réduits a l'éxamen du matériel venu di-

rectement des animaux infectés. Cependant tout dernièrement BARRET a obtenu des cultures de *Blastocystis* en milieu liquide. Ce milieu se compose d'une solution à 1/2 % de sérum humain inactivé en solution physiologique a 5%. Le milieu de culture est placé dans des tubes étroits qu'on ensemence en déposant avec précaution à l'aide d'une pipete stérilisée un peu du matériel contenant les *Blastocystis* au fond du tube. Les cultures sont faites à la température du laboratoire.

Les observations que nous avons faites en suivant la methode de BARRET nous confirma entièrement la possibilité d'obtenir des cultures de *Blastocystis* quelquefois très abondantes par ce procédé. Cependant, jusqu'ici, la méthode ne nous a apporté aucun avantage en ce qui se rapporte a l'étude de la structure et de l'évolution du parasite. Dans les cultures on n'observe aucune transformation des *Blastocystis* en flagellés mais elles montrent des formes dégénérées qui rappellent celles qui ont été décrites par Linch comme des espèces nouvelles des *Blastocyctis* Il est possible, cependant, que les cultures puissent encore être avantageuses surtout pour l'étude des formes d'évolution.

Les *Blastocystis* sont trouvés en quantité très variable dans les hôtes qu'ils parasitent. Ils ne semblent pourtant absolument les nuire. Ils deviennent quelquefois très abondants dans les états diarrhéiques et dysentériques où le milieu devient favorable a leur prolifération.

Morphologie et évolutiou des Blastocystis.

Les formes caractéristiques les plus communes des *Blastocystis* trouvées dans les animaux qu'ils parasitent sont les kystes primaires. Ces kystes examinés à l'état frais et en goutte pendante sont ronds et de dimensions très variables, puisqu'ils mesurent de 6 a 40 micra de diamètre; ils sont jaunâtres ou entièrement incolores.

Les cystes primaires présentent trois portions entièrement distinctes; la partie interne ou corps interne d'ALEXEIEFF, la couche moyenne ou protoplasmique et une couche périphérique de substance mucilagineuse.

Le corps interne est constitué d'une portion homogène contenant quelquefois des masses irrégulières d'une substance extrêmement sidérophile (Pl. 32, Fig. 12 et 12a); dont les réactions microchimiques font supposer qu'elles soient du paraglycogène. Le corps interne est en grande partie composé de substance de nature glycogénique jouant le rôle de matériel de réserve necessaire aux phases d'évolution ultérieures des *Blastocystsi*, surtout à l'occasion de la formation des kystes secondaires.

Le corps interne est normalement incolore, cependant quelquefois il peut se présenter avec des nuances jaunâtres ou même verdâtres.

Dans les préparations à l'hématoxyline de HEIDENHAIN, le corps interne se colore plus ou moins intensement d'une nuance grise; quelquefois cependant, il retient fortement la matière colorante et devient noirâtre. Les masses de paraglycogène qu'on observe dans le corps interne des *Blastocystis* sont toujours très sidérophiles et sont pour cette raison très visibles dans les préparations (Pl. 32, Fig. 12 et 12a et Pl. 33, Fig. 15, 18 et 20).

Le corps interne est entouré d'une couche protoplasmique finement alvéolaire, plus épaisse en certains points que dans des autres et surtout au niveau des noyaux. Dans le protoplasme on voit des granulations de volutine. La couche protoplasmique s'adapte parfaitement au corps interne et ce n'est que rarement (Pl. 32, Fig. 12a) qu'on voit le corps interne se contracter

à l'intérieur de son enveloppe protoplasmique.

Les noyaux des *Blastocystis*, dont le nombre varie de 1 à 32, se trouvent toujours dans la couche protoplasmique, soit groupés deux à deux, soit placés en des points opposés ou encore disséminés sur toute la surface du parasite lorsqu'ils sont très nombreux.

La structure du noyau des *Blastocystis* est très caractéristique, comme l'a signalé ALEXEIEFF, ils se composent d'une calote de chromatine excentriquement placée et séparée par une zone claire du reste de la substance nucléaire, moins compacte, moins colorable et moins abondante. Le noyau ne possède pas de membrane et se trouve placé dans une zone plus claire du protoplasme; il se rapproche par sa structure bien plus des noyaux des champignons que de ceux de n'importe quel protozoaire du groupe des flagellés.

Autour de la couche protoplasmique des *Blastocystis*, on voit à frais une couche de substance mucilagineuse. Cette couche de substance mucilagineuse, ne peut être colorée mais peut être a perçue, à frais, par la limite qu'elle établit entre les *Blastocystis* et le matériel en suspension dans le liquide entourant les cellules du parasite. Quelquefois même, une couche complètement incolore révèle, dans les préparations colorées, l'existence de cette zone de substance mucilagineuse, hyaline, observée dans les *Blastocystis* et également vérifiée dans d'autres champignons, surtout chez ceux adaptés à la vie parasitaire, comme le *Saccharomyces tumefaciens albus*, par exemple.

Les trois parties dont se composent les cystes primaires y sont toujours présentes (Pl. 32, Fig. 2—12). Seules les premières phases de l'évolution des kystes primaires (Pl. 32, Fig. 1) se présentent dépourvues de corps interne, parce qu'à ce moment il n'y a pas encore eu d'accumulation de la substance de réserve dont est formé cette structure du *Blastocystis*.

Division des Blastocystes.
(Plasmotomie)

A propos de la division des kystes primaires, il nous faudra distinguer la division de la cellule et celle des noyaux. La division cellulaire s'effectue par un processus de plasmatomie déjà signalé par divers auteurs et interprété de différentes façons. Quelques uns de ces auteurs croient que la plasmatomie est le seul processus de division des *Blastocystis*. Elle est, en effet celui qui est observé le plus fréquemment.

Le processus plasmatomique se compose d'une division binaire, quelquefois assez inégale du *Blastocystis*. Le processus débute par le changement de forme de la cellule, qui devient elliptique (Pl. 32, Fig. 5 et 11) en devenant de plus en plus allongée. Au centre il ne tarde pas à apparâitre un petit rétrécissement qui s'accentue peu à peu et amène finalement un étranglement complet du protoplasme et du corps interne. De cette façon se séparent deux nouveaux *Blastocystis* qui reconstituent immédiatement les portions altérées par le processus plasmatomique pour reprendre l'aspect typique du parasite.

Il faudra éviter de confondre le processus que nous venons de décrire avec les déformations subies par le corps des *Blastocystis* sous l'influence de la pression, tout spécialement dans les préparations entre lame et lamelle.

La signification du procéssus de division plasmatomique des *Blastocystis* reste encore obscure. Il n'est pas impossible qu'il se rattache à un phénomène sexué, qui se passerait dans la cellule, comme le pense ALEXEIEFF mais il manque encore des éléments pour juger de cette question.

Les formes plasmatomiques sont tantôt rares, tantôt très abondantes dans

le matériel examiné. La division plasmatomique s'effectue généralement dans les kystes à deux et à quatre noyaux. Ceux-ci ne souffrent aucune modification et ne paraissent prendre part dans le processus que pour passer en nombre égal dans les nouveaux *Blastocystis* à la fin du processus plasmotomique.

Division nucléaire.

La division nucléaire des *Blastocystis* commence dès les premières phases de végétation de la spore et se continue jusqu'au début de la phase de sporulation du parasite. Pour cette raison est-il rare de trouver des *Blastocystis* avec un seul noyau. Ce noyau initial (Pl. 32, Fig. 1 et 2) se divise ultérieurement en donnant fréquemment des formes a 8, 16 et 32 noyaux.

Le processus de division nucléaire des *Blastocystis* est assez simple. Il débute par un allongement de la calotte chromatique du noyau (Pl. 32, Fig. 9), qui prend la forme d'un bâtonnet légèrement recourbé. En même temps que s'allonge la substance chromatique du noyau, la portion moins colorable s'allonge aussi, en formant un petit arc à ouverture opposée au premier. Ensuite se produit la division de la substance chromatique du noyau, dont les éléments vont former deux petites calottes opposées; entre elles se place la portion moins colorable du noyau (Pl. 32, Fig. 9a). Dans une phase plus avancée du processus cette substance moins colorable se divise; chaque moitié se rapproche alors de la calotte qui lui est la plus rapprochée (Pl. 32, Fig. 8) et bientôt les deux nouveaux noyaux se trouvent parfaitement réconstitués (Pl. 32, Fig. 9 et 10).

Les différentes phases de division que nous venons de décrire sont parfaitement visibles dans la première ségmentation nucléaire mais deviennent moins perceptibles dans les autres (Pl. 32, Fig. 12a), en raison de la grandeur décroissante des éléments. A mesure que les noyaux se multiplient, le *Blastocystis* croît aussi, surtout par augmentation de la substance de réserve du corps interne., Les divisions nucléaires portent souvent le nombre des noyaux du *Blastocystis* à 16 età 32, dont chacun devra faire partie d'un kyste secondaire, dont nous passons a étudier la structure.

Formation des kystes secondaires.

Un des processus les plus intéressants et les plus rares dans l'évolution des *Blastocystis* est la formation de kystes secondaires, à cause des phénomènes cellulaires et nucléaires qu'on y observe. La formation de ces kystes est parfaitement comparable à la sporulation de certains saccharomycètes. Quoique rare, la formation de kystes secondaires quand une fois elle s'opère, est abondante dans tout le matériel, de façon que toutes les phases sont observées sans difficulté, tant dans les préparations à frais, comme dans les préparations colorées.

Les phénomènes de la formation des kystes secondaires débutent par la multiplication des noyaux du *Blastocystis* et ont lieu dans les formes à 8—32 noyaux, dont la grandeur est proportionelle au nombre d'éléments qui y existent. Ces noyaux se trouvent plus ou moins régulièrement distribués au sein du protoplasme des *Blastocystis*. Ensuite on observe dans le protoplasme autour de chaque noyau jusqu'ici homogène des petites granulations sûrement formées aux dépens du matériel fourni par le corps interne qui commence alors à diminuer (Pl. 32, Fig. 15).

Ces corpuscules ne paraissent pas s'originer des noyaux de la cellule comme de vrais mitochondries; les noyaux joueraient plutôt le rôle de centres d'attraction dans leur apparition. Le nombre de granulations qui s'accumulent au-

tour de chaque noyau est très variable (voir Pl. 33, Fig. 15 et 16). L'apparition de ces granulations dans le protoplasme marque le début la formation de cystes secondaires, puisqu'aussitôt qu'ils apparaissent, on observe que le protoplasme des *Blastocystis* jusqu'alors uni, se fragmente en des masses polygonales (Pl. 32, Fig. 16), contenant chacune un noyau et un nombre variable de granulations. Le corps interne se trouve déjà presque entièrment raréfait, commes si sa substance s'était passée sous la forme des granulations précédemment décrites, dans les ilôts de protoplasme qui se sont formés dans la couche protoplasmique du parasite.

Ces ilôtes de protoplasme ne tardent pas à perdre leur aspect polygonal primitif, en s'arrondissant et s'isolant entièrment les uns des autres. Leur aspect est alors très caractéristique; ils présentent au centre un noyau, des granulations (mitochondries, suivant ALE-' XEIEFF) en nombre variable, placées périphériquement dans les mailles d'un fin réticulum. Avec la disparation de la substance qui constituait le corps interne à cette occasion complète, la cellule devient flacide, elle se déforme et présente un aspect mammilonée, comme s'il y aurait un procès de gemmulation (Pl. 33, Fig. 20 et 21). Dans une période plus avancée les kystes s'individualisent complètement; les granulations s'appliquent à leur périphérie sous la forme de petits bâtonnets et il se forme une membrane. qui les entoure. Ces petits kystes secondaires demeurent complètement isolés et à peine maintenus au commencement à l'interieur d'un fin sac membraneux, dernier vestige de la délicate membrane du *Blastocystis* primitif (Pl. 33, Fig. 26 et 27). Une fois rompue la membrane qui enveloppe les cystes secondaires, ceux-ci deviennent complètement libres et isolés en petits groupes (Pl. 33, Fig. 23 et 24).

Les kystes secondaires complètement formés mesurent 5 a 6 micra de diamètre; ils sont alors plus petits et moins riches en granulations qu'avant leur développement complet.

Le noyau maintieu chez quelques uns son aspect typique, tandis que chez d'autres il se fragmente et, probablement dégénère (Pl. 33, Fig. 22).

La formation de kystes aurait lieu, suivant ALEXEIEFF, en 10 à 17 minutes, mais nous ne sommes jamais parvenus à la voir en si peu de temps.

Les kystes secondaires sont des formes de résistance des *Blastocystis* et ils se forment comme nous venons de le voir, par un processus analogue à celui de la constitution des ascospores chez certains schizosaccharomycètes *(Schizosaccharomyces octosporus)*. La membrane hyaline qu'ils possèdent et qui n'est pas visible généralement dans les préparations colorées, les protège dans le milieu extérieur quand ils sortent de l'intestin de l'animal parasité.

WENYON et O'CONNER ont vu une seule fois chez l'homme une forme de division multiple de *Blastocystis* qui n'a cependant rien à voir avec le processus ci-dessus décrit, puisque dans la reproduction graphique de la forme qu'ils ont vue, ces auteurs nous montrent un kyste plein de petits kystes primaires, tous avec leur corps interne et divers noyaux, ce qui ne correspond pas à la forme classique des *Blastocystis*. Les formes de sporulation mentionnées et dessinées par LYNCH ne paraissent pas avoir une signification très précise, ainsi que celles décrites par FLU et qui ressemblent plus à des kystes primaires dégénerés et mal fixés qu'à des vraies formes de sporulation des *Blastocystis*.

L'évolution ultérieure des kystes secondaires n'est pas aisée à suivre. L'examen de notre matériel nous porte à croire que dans l'intestin de l'animal déja parasité ou d'un autre indemne qui les ingère, ils se transforment de nouveau en kystes primaires.

Cette transformation est amenée par

les changements suivants dans le kyste secondaire; absorption et disparition des granulations et des réticula qui existaient dans la spore; celle-ci devient homogène et présente un seul noyau et une membrane hyaline très visible (Pl. 32, Fig. 1). Dans cette phase le cyste augmente sensiblement de volume. Dans une phase plus avancée de son évolution commence la formation du corps interne et alors le *Blastocystis* se trouve déja avec sa mince couche protoplasmique et avec tout l'aspect d'un kyste primaire mais encore uninuclé (Pl. 32, Fig. 2). Le noyau de la forme antérieure ne tarde pas à se diviser (Pl. 32, Fig, 3) et il y a lieu dans le protoplasme du *Blastocystis* à la migration de ces éléments a des points opposés (Pl. 32, Fig. 3 et 4), ce qui amène l'apparition des formes les plus caractéristiques du parasite, les kystes primaires typiques.

L'évolution des *Blastocystis* telle que nous venons de la décrire, est celle qui nous parait la véritable et d'accord avec les faits signalés avec tant de précision par ALEXEIEFF. Dans ce cycle il n'est question d'aucune phase flagellée. Nous croyons que les auteurs qui les auraient vues, aient eté amenés à cette erreur par la coexistence de plusieurs parasites dans le matériel ou peut-être on aurait affaire à une infestation du *Blastocystis* par un parasite qui lui serait propre, comme, selon notre avis, il parait être arrivé à quelques uns des auteurs qui ont décrit des phases flagellées dans l'évolution du *Blastocystis*.

On ne peut non plus méconnaitre une certaine ressemblance, entre les différentes phases de formaiion des kystes secondaires et le processus de multiplication d'*Amœba histolytica*, décrit par SCHAUDINN dans son mémorabe travail sur les amibes pathogènes de l'homme. Le procéssus de bourgeonnement chez *Endamœba histolytica* ressemble bien à celui de la formation de spores chez *Blastocystis*. les petits cystes de *l' Endamœba* décrits par le regretté savant allemand étant comparables aux spores du *Blastocystis*.

L'observation est rendue surtout difficile par les autres protozoaires et végétaux inférieurs qui habitent avec le *Blastocystis* l'intestin des animaux et qui se prêtent aux confusions qui ont été si souvent faites par les auteurs qui s'en sont occupés. L'irrégularité avec laquelle s'accomplit l'évolution dans les différents animaux et la rareté des phases si intéressantes de sporulation concourent aussi a difficulter l'étude de ce sujet.

Conclusions.

1o

Les *Blastocystis* trouvés dans les différents animaux à sang chaud et à sang froid ne sont pas de formes d'évolution de flagéllés ni de n'importe quel autre parasite animal ou végétal de l'intestin.

2o

Les *Blastocystis* sont des végétaux parasites différenciés par le parasitisme, mais plus rapprochés de certains blastomycètes et surtout des saccharomycètes pathogéniques.

3o

La multiplication des *Blastocystis* a lieu par deux procès différents: celui de plasmotomie, se passe dans les cystes primaires et l'autre, de sporogamie à l'intérieur d'une espèce d'ascospore dont résultent les formes de résistance du parasite. Il est possible qu'avant le commencement de la sporulation il se passe des phénomènes séxués semblables à ceux qu'on connaît chez certains saccharomycètes.

4o

Autant que nos connaissances au

sujet de la morphologie et biologie des *Blastocystis* nous permettent d'en juger, l'existence de plusieurs espèces de ce parasite ne paraît pas bien établie.

5o

Les *Blastocystis* n'ont aucune action pathogénique sur les organismes qu'ils parasitent et chez l'homme on n'observe aucun rapport entre leur présence et n'importe quel état morbide. Ils doivent selon nous être envisagés comme un parasite banal de l'intestin.

Explication des figures.

Dessins faits avec la chambre claire à l'hauteur de la platine du microscope, et en utilisant l'objectif d'immersion homogène de 2 mm.; et de l'oculaire compensatéur 12. Longueur du tube, 16. cm.

Pl. 32

Fig. 1. Forme initiale d'évolution d'un kyste primaire sans vacuole

Fig. 2. Cyste primaire avec un seul noyau et vacuole.

Figs. 3—10. Différentes phases de l'évolution de cystes primaires.

Fig. 11. Kyste primaire en phase de plasmotomie.

Fig. 12. Kyste primaire avec une masse sidérophile à l'intérieur.

Figs. 12—13. Kystes primaires avec beaucoup de noyaux dans une phase antérieure à la formation de kystes secondaires.

Pl. 33

Fig. 14. Kystes primaires avec 12 noyaux disséminés dans le protoplasme.

Fig. 15. Début de la formation des kystes secondaires. Apparition des granulations dans le protoplasme autour des noyaux.

Figs. 16—22. Différentes phases de formation des kystes secondaires depuis les premières ésquisses de ségmentation du protoplasme jusqu'à la constitution des kystes.

Figs. 23 et 24. Kystes secondaires complètement constitués et isolés.

Syphilis in the adrenals

by

DR. C. BURLE DE FIGUEIREDO

(With plates 34–39).

Histopathological syphilitic lesions in the adrenals have latterly been the object of special researches and references in the litterature on this subject.

Of late, professor SIMMOND, of Hamburg, and ALDRED SCOTT, professor of Michigan University, the former in his research-work on congenital syphilis of the adrenals, the latter in the study of the effects of syphilis on the different organs, published more detailed observations modelled on previous researches, which had not until then led to a series of coordinated conclusions. SIMMOND (1) describing the characteristic lesions of congenital syphilis of the adrenals considers the thickening of the capsule, observed by him in all the 18 cases he studied, as the pathognomonic lesion. He calls this thickning «*perihypernephritis syphilitica*». Besides this he indicates the infiltrations of limphocytes in the cortex, which he does not consider as a primitive manifestation of the morbid process but as a the spreadnig of the process from the capsule.

In 1916, ALDRED SCOTT (2) published an article on «The persistence of active lesions and spirochetes in the tissues of clinically inactive or cured syphilis», quoting 6 cases of syphilitic lesions of the adrenals observed out of 41 autopsies. In the order of frequency as sites of this lesions he considers the adrenals to take the fourth place.

He gives the following order aorta, heart, testicle, adrenals, central nervous system, liver and spleen. In these he found infiltrations of mononuclear leucocytes in the medulla and in the limits between cortex and medulla with spiro-

1—Virchow's Archiv, 1914, Bd 216.

2—The American Journal of Medical Sciences, 1916, v. 125.

chetes in the infiltrated sites. Two years later, in 1918, he (3) returned to the subject, publishing an original article, under the title of «The new pathology of syphilis», with a page on the adrenals, the lesions of which he described with more detail illustrating them with a microphotograph in support of his previous views.

Identical observations had already been previously made not only by FORDYCE (4) who observe that all lymphatic lesions begin in the perivascular lymphatic spaces as infiltrations of lymphocytes and of plasma-cells, but also by VAN GIERKE who describes a case of infiltration of the medulla with perivascular infiltration, pronounced alteration of the cortex and inflammatory process of the capsule.

My own observations, which follow, were carried out in the Department for Pathological Anatomy of the Institute Oswaldo Cruz.

They refer to 90 autopsies on syphilitic subjects, whose diagnosis had been made not only by macroscopical but also by histological methods. Out of this number 75 showed adrenal lesions, specific in the acceptation of all the authors. The lesions found were as follows.

I) Infiltrations of limphocytes and plasma-cells 63 %, mostly perivascular, inside or outside the capsule, or less often in the cortex or dispersed in the organ.

II) Thickening of the capsule 31 %, with pericapsular infiltrations.

III) Limited fibroses 3,3 % (see note X).

We did not observe any cases of calcified gummata with giant-cells, atrophy of the capsule or simple proliferation of the fibroblasts, these the literature as rare. We were, however able to confirm SCOTT's observation of spirochetes in the zones of diffuse infiltration of lymphocytes as will be seen in Figs. 10 and 11 (from autopsy 1457, as also 5 and 6) reproducing, impregnated by LEVADITI's process, sections from one of the adrenals with the most extensive lesions.

As we could not dispose of clinical observations on the cases submitted to us for anatomo-pathological investigation we were unable to establish the connection betweed the lesions found and the clinical symptoms that might have been observed.

It is certain that in lesions of ani kind localised in the adrenals (Addison's disease), extensive bilateral lesions are very uncommon, and only rarely make thenselves felt by clinical symptoms. The cases found in the litterature on the subject reporting cures by specific antisyphilitic treatment are even more uncommon. And yet, according to my opinion, the histological verification of the lesions of syphilitic origin in the adrenals is not meely of anatomical interest but is also a valuable element for the pathological diagnosis of the disiase since it is by itself sufficient to

(3)—The American Journal of Syphilis, 1918.

(4)—Fordyce, Amer. Journ. of Med. Sciences, v. 149, 1915.

(x)—Besides the above mentioned syphilitic lesions I observed 20 capsules with adenomata, 19 with lipoidosis of the cortex 1 with tuberculosis 1 with malign tumour, 2 with haemorrhage, 11 with hyperaemia.

(x)—Virchow's Archiv. B. 172, 1903.

Beiträge zur Patholog. Anatomie und zur Allg. Pathologie Bd. 62, 1916.

Annales de Dermat. et de Syphiligraphie, 1905, 638, 212.

Annales des Maladies Vénériennes, 1911, 320.

Gazette des Ho. 1317, 1914.

New York Medical Journal 1916.

characterise it. Its undeniable value is enhanced by the frequency (83%). with which I observed it as a result of syphilis.

I will now proceed to the protocolls of each of my observations in which the histological confirmation of syphilis in the different organs and more specially the description of lesions of any kind of the adrenals will be found.

Autopsy nº. 1005
Sex: Male.
Age: 27 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Encephalitis syphilitica hemispherii sinistri. Cicatrix penis. Hyperaemia hepatis et partium inferiorum pulmonum. Perisplenitis et atrophia lienis. Varus equinus.

Histological verification of syphilis: Brain. Adrenals.

Adrenals: Thickening of the capsule.

Autopsy nº. 1011.
Sex: Male.
Age: 53 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Atrophia et dilatatio ventriculi et auriculae utriusque. Sclerosis valvulae aorticae. Leishmaniosis nasis. Cicatrix cutis mucosae nasi et penis. Leucoma. Petechiae intestini tenuis submucosae. Nephritis chronica. Ankylostomiasis. Aortitis. Syphilis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Endocardium. Nose. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes and plasma-cells in the innermost part of cortex. Perivascular infiltration. Thrombosis.

Autopsy nº. 1115.
Sex: Male.
Age: 32 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Mesaortitis luetica. Sclerosis valvularum aortae. Dilatatio ventriculi utriusque. Hypertrophia ventriculi dextri. Haemorrhagiae epicardii pleurae et nodorum peribronchialium. Infarctus pulmonis. Hydrothorax dexter. Hyperaemia renum et hepatis. Hyperplasia nod. lymph. intestini tenuis. Taenia. Leptomeningitis chronica luetica. Encephalomalacia.

Histological verification of syphilis: Aorta. Endocardium. Lymphatic glands. Brain. Adrenals.

Adrenals.: Perivascular infiltration of lymphocytes. Adenomata of capsule. Hyperaemia. Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1123.
Sex: male.
Age: 64 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Encephalomalacia cystica cerebri. Mesaortitis luetica. Contraturae musculorum. Cicatrices cutaneae. Decubitus. Fibrosis testis dextri. Atrophia cordis. Nephritis chronica interstitialis. Hyperaemia et atrophia hepatis. Hypostasis et oedema pulmonis. Pleuritis et pericarditis chronica adhesiva. Cystitis chronica ulcerativa. Thrombosis sinus meningis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Testicle. Brain. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes and plasma-cells, unequally distributed, perivascular, internal layer of cortex. Connective tissue outside capsule. Thickening of capsule. Lipoidosis of capsule.

Autopsy nº. 1131.
Sex: Female.
Age: 30 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Salpingo-oophoritis purulenta acuta dupla. Perimetritis chronica. Peritonitis fibrino purulenta. Anaemia. Aortitis luetica (gumma). Pleuritis adhesiva chronica. Perisplenitis chronica. Degeneratio acuta hepatis et renum. Cicatrices cruris. Trichocephaliasis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Adranals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Slight perivascular fibrosis. Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1132.
Sex: Male.
Age:
Nationality:

Anatomical Diagnosis: Malaria. Hyperplasia et pigmentatio lienis. Pigmentatio hepatis. Tuberculosis chronica peribronchialis pulmonum. Degeneratio renum. Sclerosis aortae (syphilis). Cicatrices cutanea, penis et cruris (syphilis). Alopoecia (syphilis). Ankylostomiasis. Ascariasis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells, outside capsule and cortex. Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1150.
Sex: Male.
Age: 32 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Pneumonia cruposa. Bronchopneumonia. Mesaortitis syphilitica. Hepatomegalia. Splenomegalia. Ascites. Nephritis chronica parenchymatosa. Ankylostomiasis. Syphilis.

Histological verification of syphilis: Liver. Aorta. Adrenals.

Adrenals: Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1158.
Sex: Male.
Age: 43 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Fractura femoris. Osteomyelitis chronica suppurativa femoris. Nephritis acuta parenchymatosa. Enterocolitis acuta fibrinosa. Hyperaemia hepatis. Tumor (fibroma) peritonei. Lingua glabra. Hyperplasia lienis. Arteriosclerosis. Sclerosis arteriae lienis. Ankylostomiasis. Trichuriasis.

Histological verification of syphilis: Tongue. Kidneys. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells.

Autopsy nº. 1166.
Sex: Male.
Age: 70 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Mesaortitis syphilitica. Aneurysma aortae descendentis. Hypertrophia ventriculi sinistri. Cicatrix myocardii et endocardii. Perisplenitis chronica. Emphysaema pulmonum. Fibrosis lienis. Atrophia renum. Nodulae intestini tenuis et crassi.

Histological verification of syphilis: Aorta (aneurysm). Endocardium. Myocardium.

Adrenals: Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1186.
Sex: Male.
Age: 43 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Endocarditis chronica et acuta destruens valvulae aortae. Hypertrophia ventriculi sinistri. Hyperaemia et oedema pulmonum. Hydrothorax. Hepatitis chronica interstitialis. Hyperaemia et infarctus lienis. Cicatrices et infarctus, renum. Haemorrhagiae mucosae intestini et cutis. Cicatrix penis. Ankylostomiasis.

Histological verification of syphilis: Liver. Penis. Adrenals.

Adrenals: Central, Perivascular infiltration of lymphocytes. Adenomata of capsule.

Autopsy nº. 1196.
Sex: Male.
Age: 30 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Aneurysma arcus aortae. Erosio tracheae. Aortitis syphilitica. Haemorrhagia et infarctus pulmonum. Hyperaemia lienis renum et meningium. Noduli jejuni. Synechiae

pleurae. Hyperaemia et infarctus hepatis.

Histologcial verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes.

Autopsy nº. 1203.
Sex: Male.
Age: 60 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Carcinoma ventriculi. Tuberculosis chronica fibrosa pulmonis sinistri. Pleuritis chronica adhesiva. Lymphadenitis tuberculosa cervicalis, peritrachealis et peribronchialis. Tuberculosis glandularum suprarenalium. Enteritis tuberculosa ulcerativa. Aortitis syphilitica. Atrophia fusca cordis. Sclerosis vasorum coronarium. Perisplenitis chronica. Gumma hepatis. Tuberculosis hepatis. Nephritis chronica interstitialis. Oedema meningium. Ulcera crurum.

Histological verification of syphilis: Skin. Aorta. Liver.

Autopsy nº. 1210.
Sex: Male.
Age: 45 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Anaemia gravis. Ankylostomiasis degeneratio adiposa cordis. Dilatatio ventriculi utriusque. Oedema pulmonum. Hydrothorax duplus Tuberculosis circumscripta pulmonis et pleurae. Degeneratio adiposa renum. Hyperaemia hepatis degeneratio adiposa. Anaemia. cerebri et meningium. Oedema crurum. Medulla ossea adiposa. Perforatio saeptinasi. Cryptorchidismus unilateralis.

Histological verification of syphilis: Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes in the innermost part of cortex. Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1217.
Sex: Male.
Age: 57 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Nephritis chronica interstitialis. Hypertrophia ventriculi utriusque. Dilatatio ventriculi dextri. Fibrosis myocardii. Calcificatio valvularum aortae et mitralis. Calcificatio endocardii ventriculi sinistri. Atheroma aortae. Atrophia fusca hepatis. Fibrosis lienis. Perisplenitis chronica. Synechiae pericardii. Hydrothorax dextrus. Atelectasia pulmonis dextri. Cicatrices crurum. Hydroperitonæum. Petechiae epicardii et mucosae intestini. Gastritis hypertrophica. Ascariasis.

Autopsy nº. 1227.
Sex: Male.
Age: 36 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Aneurysma arcus aortae. Mesaortitis chronica (syphilis). Synechiae pericardii. Dilatatio auriculae et ventriculi dextri. Hypertrophia ventriculi sinistri. Oedema, hyperaemia et atelectasia pulmonis sinistri. Oedema, hyperaemia et emphysaema pulmonis dextri. Hyperaemia chronica hepatis. Hyperplasia chronica lienis. Perisplenitis chronica. Degeneratio adiposa et hyperaemia renum. Hernia intestini tenuis in omentum minus. Hydroperitoneum. Hydrothorax sinister. Ankylostomiasis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals.: Central Perivascular infiltration of lymphocytes.

Autopsy nº. 1246.
Sex: Male:
Age: 50 years.
Nationality: Italian.

Anatomcial Diagnosis: Syphilis. Nephritis interstitialis chronica. Hypertrophia et dilatatio ventriculi sinistri. Dilatatio ventriculi dextri. Degeneratio adiposa myocardii. Aortitis levis. Oedema et hyperaemia pulmonis utriusque. Pneumonia crouposa lobi medii pulmonis dextri. Oedema meningium. Pleuritis chronica adhesiva. Hyperplasia et fibrosis lienis. Degeneratio parenchymatosa acuta et adi-

posa hepatis. Hydrothorax sinister. Ulcera crurum. Lymphadenitis chronica inguinalis et iliaca sinistra.

Histilogical verification of syphilis: Skin. Kidneys. Myocardium. Lymphatic glands. Adrenals

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1247.
Sex: Male:
Age: 48 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Syphilis Nephritis diffusa chronica. Dilatatio auriculae et ventriculi dextri. Hypertrophia ventriculi sinistri. Myomalacia. Hydrothorax duplus. Oedema pulmonum. Atelectasia et hyperaemia lobi inferioris pulmonis sinistri. Lingua glabra. Pachymeningitis haemorrhagica interna sinistra. Encephalomalacia circumscripta. Hernia inguinalis dextra. Phymosis. Balanitis suppurativa. Ulcera cutanea. Degeneratio hepatis.

Histological verification of syphilis: Tongue. Skin. Kidneys. Adrenals.

Adrenals: Thickening of capsule. Lipoidosis of capsule.

Autopsy nº. 1258.
Sex: Male:
Age: 36 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Syphilis. Aneurysma arteriae coroniae anterioris. Arteritis syphilitica aortae et arteriae coronariae. Hypertrophia ventriculi sinistri. Dilatatio auriculae sinistrae. Balanitis ulcerativa. Cicatrices crurum. Hyperaemia chronica pulmonum, lienis, hepatis et renum. Necrosis mucosae intestini crassi Petechiae endocardii et mucosae gastricae. Pleuritis chronica dextra. Hydroperitoneum. Hydropericardium. Hydrothorax.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Penis. Intestine. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Hyperaemia.

Autopsy nº. 1263.
Sex: Male:
Age: 42 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Syphilis. Hypertrophia et dilatatio ventriculi utriusque. Pleuritis chronica dextra. Hyperaemia chronica hepatis, lienis et renum. Degeneratio adiposa hepatis et myocardii. Perisplenitis chronica. Prostatitis chronica. Hydroperitoneum. Hydrothorax dexter. Cicatrices crurum. Phymosis. Ulcus penis. Infarctus pulmonis dextri.

Histological verification of syphilis: Skin. Penis. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1276.
Sex: Male.
Age: 35 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Hepatitis chronica interstitialis (syphilitica). Hyperplasia lienis. Perisplenitis chronica. Hydroperitoneum. Fibrosis et atrophia myocardii. Fibrosis testis. Lymphadenitis chronica perigastrica, peripancreatica, lumbaris et hepatica. Fibrosis pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva sinistra. Icterus. Cicatrices crurum. Ankylostomiasis. Hyperaemia chronica renum. Anomalia arteriae coronariae sinistrae.

Histological verification of syphilis: Skin. Liver. Lymphatic glands. Testicles. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes in medulla and outside capsule. Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1290.
Sex: Male.
Age: 23 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Malaria. Hy-

perplasia et pigmentatio lienis. Pigmentatio hepatis. Hyperaemia pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Gumma testis sinistri. Fibrosis testis dextri. Cicatrix penis. Decubitus. Cadaver putrefactum. Ankylostomiasis.

Histological verification of syphilis: Penis. Testicle. Adrenals.

Adrenals: Thickening of capsules. Adenoma.

Autopsy nº. 1296.
Age: 30 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Nephritis chronica interstitialis. Hypertrophia ventriculi utriusque. Dilatatio ventriculi sinistri. Oedema et emphysaema pulmonum. Hydroperitoneum. Hydrothorax duplus. Fibrosis myocardii. Atrophia fusca hepatis. Atrophia lienis. Fibrosis testis. Oedema, hyperaemia et petechiae mucosae intestini. Oedema levis meningium. Ankylostomiasis. Diverticulum intestini (Meckel). Anasarca. Cicatrices cutaneae. Papilloma renis.

Histological verification of syphilis: Kidney. Adrenal.

Adrenals.: Infiltration of lymphocytes in cortex.

Autopsy nº. 1305.
Sex: Male.
Age: 59 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Arteritis syphilitica. Aneurysma arcus aortae. Compressio pulmonis dextri, venae cavae superioris, oesophagi et tracheae. Infarctus, hyperaemia et oedema pulmonum. Erosio sterni. Pleuritis chronica adhesiva. Degeneratio adiposa et hyperaemia hepatis. Hyperaemia chronica lienis. Nephritis interstitialis chronica. Adenoma renis sinistri. Fibrosis glandulae prostatae.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells.

Autopsy nº. 1331.
Sex: Male.
Age: 28 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Aortitis syphilitica. Aneurisma aortae thoracicae. Necrosis vertebrarum dorsalium et costarum, Compressio medullae spinalis. Pyonephritis. Cystitis pseudomembranosa. Emphysaema pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva. Ankylostomiasis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes and plasma cells. in cortex and medulla. Thrombosis. Hæmorhage. Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1339.
Sex: Male.
Age: 23 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Syphilis Stricturae urethrae. Dilatatio circumscripta urethrae et urethritis necrotica. Cystitis suppurativa et hypertrophia vesicae urinalis. Pyelitis chronica et hydronephrosis levis renis dextri. Nephritis interstitialis chronica thrombotica. Perisplenitis chronica et synechia (abscessus antiquus). Hyperplasia lienis. Degeneratio parenchymatosa, cicatrices et synechiae hepatis. Pancreatitis interstitialis chronica. Compressio capsulae suprarenalis sinistrae. Fibrosis testis. Periorchitis chronica. Vesiculitis seminalis chronica. Hyperaemia et oedema pulmonum. Hypertrophia ventriculi sinistri. Infiltratio adiposa myocardii. Leptomeningitis chronica. Lingua glabra. Lymphadenitis chronica lumbaris. Ulcus cruris. Cicatrices cutis. Cicatrix vulneris puncti abdominis.

Histological verification of syphilis: Skin. Lymphatic glands. Testicles. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of

lymphocytes in cortex and medulla. Slight thickening of capsule.

Autopsy nº. 1340.
Sex: Male.
Age: 50 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomialc Diagnosis: Malaria. Ankylostomiasis. Ileocolitis acuta serosa et ulcerativa incipiens. Peritonitis acuta suppurativa. Hydroperitoneum. Hepatitis interstitialis chronica. Hyperplasia lienis et perisplenitis chronica. Pigmentatio lienis et hepatis. Fibrosis testis dextri. Nephritis acuta parenchymatosa. Hydrothorax duplus. Hyperaemia. oedema et anthracosis pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva dupla. Pericarditis chronica circumscripta. Sclerosis vavulae mitralis et aorticae. Hypertrophia ventriculi sinistri. Arteriosclerosis. Cicatrix ulceris duodeni. Anaemia cerebri.

Histological verification of syphilis: Liver. Endocardium. Testicle. Adrenals.

Adrenals: Thickening of capsule.

Autopsy nº. 1350.
Sex: Male.
Age: 43 years.
Nationality: German.

Anatomical Diagnosis: Oedema, hyperaemia et emphysaema pulmonum. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Hydrothorax. dexter Hypertrophia ventriculi sinistri. Dilatatio ventriculi dextri Arteriosclerosis. Hyperplasia et hyperaemia capsulae suprarenalis utriusque. Hyperaemia chronica hepatis. Pyelitis sinistra. Cystitis catarrhalis. Atrophia circumscripta corticis cerebri. Atrophia cruris et brachii sinistri. Asymetria faciei. Encephalomalacia nuclei lenticularis et capsulae internae dextrae. Anomalia pulmonis sinistri.

Histological verification of syphilis: Aorta. Brain. Adrenals.

Adrenals: Slight perivascular infiltration of lymphocytes hipoidosis of cortex. Hyperaemia.

Autopsy nº. 1351.
Sex: Male.
Age: 57 years.
Nationality: Italian.

Anatomical Diagnosis: Mesaortitis chronica. Aneurysma arcus aortae. Bronchopneumonia, oedema et emphysaema pulmonis. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Perisplenitis chronica. Splenomalacia. Nephritis interstitialis chronica. Cholelithiasis. Hyperplasia nodularis et diffusa prostatae. Sclerosis arteriae basilaris. Cicatrix penis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1361.
Sex: Male.
Age: 34 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Syphilis. Aneurisma aortae thoracicae in parte descendente. Mesaortitis. Atelectasia pulmonis sinistri. Bronchopneumonia tuberculosa. Pleuritis chronica adhesiva. Necrosis vertebrarum. Hyperaemia chronica passiva hepatis et renum. Atrophia lienis. Lymphodenitis mesaraica. Dilatatio ventriculi dextri.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and some plasma-cells. Decided thickening of capsule.

Autopsy nº. 1362.
Sex: Male.
Age: 35 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis. Syphilis. Hepatitis interstitialis chronica. Hyperplasia lienis. Perisplenitis chronica. Nephritis parenchymatosa chronica. Hypertrophia ventriculi utriusque. Pleuritis chronica sinistra. Infiltratio adiposa myocardii. Oedema et hyperaemia pulmonum.

Necrosis saepti nasis et cicatrix alae nasis et glabelae. Colitis ulcerativa. Anasarca. Cicatrices crurum. Haemorrhagia capsulae suprarenalis sinistrae.

Histological verification of syphilis.: Skin. Liver. Nose. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Haemorrhage.

Autopsy nº. 1363.
Sex: Male.
Age: 53 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Pericarditis fibrino purulenta. Pleuritis fibrino purulenta sinistra. Atelectasia pulmonis sinistri Emphysaema marginalis pulmonis dextri. Oedema lobi superioris et medii pulmonis dextri. Oedema et hyperaemia lobi inferioris pulmonis dextri. Splenitis acuta. Hyperaemia chronica passiva et degeneratio adiposa hepatis. Dermatitis papulosa.

Histological verification of syphilis: Skin. Adrenals.

Adrenals: Slight central perivascular infiltration of lymphocytes. Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1373.
Sex: Male.
Age: 60 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Atheroma aortae. Bronchopneumonia. Tuberculosis fibrosa pulmonis dextri. Oedema et hyperaemia pulmonum. Pleuritis chronica dextra. Hyperaemia hepatis et renum. Decubitus. Cicatrix penis. Cystitis pseudomembranosa. Proctitis. Diverticula sigmoidea (?).

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1374.
Sex: Male.
Age: 29 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Haemorrhagia cerebralis. Encephalomalacia capsulae internae, nuclei lenticularis et lobi frontalis dextri. Hyperaemia meningium, pulmonis dextri, renum, hepatis, lienis et capsularum suprarenalium. Bronchopneumonia sinistra. Pleuritis chronica sinistra. Hypertrophia ventriculi sinistri.

Histological verification of syphilis: Aorta. Brain.

Adrenals: Adenoma of cortex. Hyperaemia. Lipoidosis (slight) of cortex.

Autopsy nº. 1383.
Sex: Male.
Age: 63 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Ulcus carcinomatosum ventriculi cum perforatione. Carcinoma metastatica in nodis mediastini posterioris, perigastricis et lumbaris. Peritonitis serofibrinosa. Arteriosclerosis et aortitis chronica (syphilis). Atrophia cordis, hepatis et lienis. Hyperaemia et oedema pulmonis dextri. Nephritis interstitialis chronica. Oedema meningium.

Histological verification of syphilis: Aorta. Penis. Kidneys. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells, central and outside capsule.

Autopsy nº. 1386.
Sex: Male.
Age: 21 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Tuberculosis miliaris acuta pulmonum, hepatis et lienis. Lymphadenitis tuberculosa mesaraica et mesocolica. Enteritis tuberculosa ulcerativa. Pharyngitis ulcerativa. Laryngitis ulcerativa. Oesophagitis ulcerativa. Tracheitis ulcerativa. Syphilis. Cicatrix penis. Perisplenitis chronica. Perihepatitis chronica. Pleuritis adhesiva sub-acuta. Hypertrophia ventriculi utriusque. Aortitis. Clades saepti nasis. Ulcus

alae sinistrae. nasis (Leishmaniosis). Granuloma nasis (Leishmaniosis). Ulcus labii superioris (Leishmaniosis) Atrophia renum. Ankylostomiasis.

Histological verification of syphilis: Larynx, Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells. Thickening of capsules.

Autopsy nº. 1400.
Sex: Male.
Age: 90 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomcial Diagnosis: Ulcura et cicatrices syphilitica cutis, laryngis et tracheae. Exfoliatio epidermis. Aortitis chronica syphilitica. Hypertrophia et dilatatio ventriculi utriusque. Emphysaema et oedema pulmonum. Hyperaemia chronica hepatis et lienis. Cicatrices renum. Typhlitis ulcerativa. Oedema leptomeningium. Ankylostomiasis. Ascariasis.

Histological verification of syphilis: Trachæa. Aorta. Skin. Larynx Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes and plasma-cells.

Autopsy nº. 1416.
Sex: Male.
Age: 20 years.
Nationality: Brazilian.

Aanatomical Diagnosis: Emphysaema pleurae sinistrae. Pneumonia crouposa pulmonis sinistri. Bronchopneumonia pulmonis dextri. Gangraena circumscripta pulmonis sinistri. Pleuritis chronica adhesiva dextra. Hyperaemia hepatis. Perihepatitis chronica. Hyperplasia lienis. Hyperplasia lymphoidea intestini. Atheroma aortae. Cicatrices cutis. Vitiligo. Fibroma renis sinistri. Trichuriasis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Skin. Adrenals.

Adrenals: Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1428.
Sex: Male.
Age: 41 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Nephritis parenchymatosa chronica. Degeneratio adiposa myocardii. Degeneratio adiposa et atrophia levis hepatis. Oedema pulmonum. Hydrothorax duplus. Hydroperitoneum. Anaemia cerebri. Perisplenitis chronica. Diverticulum intestini (Meckel). Syphilis. Cicatrix penis. Oedema levis crurum. Ankylostomiasis. Lymphadenitis chronica inguinalis.

Histological verification of syphilis: Lymphotic glands. Adrenals.

Adrenals: Central perivascular infiltration of lymphocytes. Thickening of capsule. Lipoidosis of cortex.

Autopsy nº. 1433.
Sex: Male.
Age: 63 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Bronchopneumonia sinistra. Pleuritis fibrinosa dextra. Pyothorax. Atelectasia pulmonis dextri. Bronchitis acuta catarrhalis. Aortitis syphilitica. Hypertrophia ventriculi utriusque. Hyperaemia et degeneratio adiposa hepatis. Degeneratio parenchymatosa renum. Ankylostomiasis, Ascariasis. Leucoplasia oesophagi.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of leucocytes and plasma.-cells in medulla, Fibrosis. Thickening of capsule. Hyperaemia. Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1436.
Sex: Male.
Age: 28 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Pneumonia crouposa dextra. Oedema et hyperaemia pulmonis sinistri. Pleuritis adhesiva dextra. Mesaortitis syphilitica. Degeneratio adiposa hepatis. Nephritis acuta parenchymatosa. Hypertrophia ventriculi sinistri. Hyperaemia lienis. Ulcera oesophagi. Adenoma capsulae suprarenalis sinistrae. Ankylostomiasis.

Histological verification of syphilis: Aorta.

Autopsy nº. 1457.
Sex: Male.
Age: 48 years.
Nationality: Portuguese.

Anatomical Diagnosis: Haemorrhagia. Aneurysma arcus aortae et aortae descendentis. Ruptura aneurismae in oesophagum. Pneumonia lobi inferioris pulmonis sinistri. Atelectasia lobi superioris pulmonis sinistri. Arteritis arteriarum carotidum. Perisplenitis chronica. Hyperaemia chronica hepatis.

Microscopically: Pneumonia syphilitica l. i. p. s. Adrenalitis syphilitica. Nephritis chronica diffusa.

Histological verification of syphilis: Aneurysm. Lung. Adrenals.

Adrenals: intense perivascular and diffused infiltration of lymphocytes and plasma-cells.

Autopsy nº. 1463.
Sex: Male.
Age: 49 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomcial Diagnosis: Pneumonia crouposa dextra. Atelectasia pulmonis sinistri. Hepatitis chronica. Perihepatitis chronica. Peritonitis chronica Atrophia lienis. Perisplenitis chronica. Arteritis syphilitica. Hypertrophia ventriculi sinistri. Dilatatio ventriculi dextri Degeneratio parenchymatosa renum. Hydrothorax duplus. Hydroperitoneum.

Histological verification of syphilis: Aorta. Liver. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes in cortex, perivascular outside the capsule.

Autopsy nº. 1469.
Sex: Male.
Age; 26 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Bronchopneumonia ulcerativa tuberculosa dupla. Lymphadenitis tuberculosa peribronchialis et mesaraica. Pleuritis adhesiva chronica. dupla. Laryngitis ulcerativa syphilitica. Appendicitis tuberculosa. Enterocolitis ulcerativa tuberculosa. Cicatrix penis. Peritonitis tuberculosa circumscripta.

Histological verification of syphilis: Penis. Larynx. Adrenals.

Adrenals: Slight perivascular infiltration of lymphocytes.

Autopsy nº. 1470.
Sex: Male.
Age: 48 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: Arteriosclerosis. Aortitis chronica syphilitica. Nephritis interstitialis chronica. Hypertrophia ventriculi sinistri. Dilatatio ventriculi dextri et auricularum. Sclerosis vasorum cerebri. Oedema, emphysaema et hyperaemia pulmonum. Hyperaemia passiva chronica hepatis. Petechiae ventriculi et pericardii. Hydrothorax duplus Calcificatio glandulae thyreoidicae. Atrophia lienis. Ankylostomiasis. Dilatatio vesicae urinalis.

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Perivascular infiltration of lymphocytes and a few plasm-cells. Lipoidosis of cortex. Hyperaemia. Adenoma of capsule.

Autopsy nº. 1479.
Sex: Male.
Age: 46 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis Stenosis et cicatrices recti. Colitis ulcerativa et polyposa. Perforatio coli sigmoidei. Varices venae haemorrhoidalis. Atrophia fusca myocardii. Tuberculosis apicum pulmonum. Atelectasia pulmonis sinistri. Emphysaema et oedema pulmonis sinistri. Pleuritis chronica adhesiva sinistra. Perisplenitis chronica. Atrophia fusca hepatis. Hyperaemia passiva renum.

Histological verification of syphilis: Larynx. Adrenals.

Adrenals: Adenomata of capsules. Carcinomes.

Autopsy nº. 1692.
Sex: Male.
Age: 50 years.
Nationality: Spanish.

Anatomical Diagnosis: Malaria. **Oedema pulmonum. Degeneratio parenchymatosa renum. Pigmentatio hepatis et lienis. Splenitis acuta. Arteriosclerosis. Icterus. Lymphadenitis tuberculosa tracheobronchialis. Aortitis chronica syphilitica. Tuberculosis fibrocaseosa pulmonis.**

Histological verification of syphilis: Aorta. Adrenals.

Adrenals: Perivascular and disseminated infiltration of lymphocytes and plasma-cells.

Autopsy nº. 1700.
Sex: Male.
Age: 28 years.
Nationality: Brazilian.

Anatomical Diagnosis: **Pneumonia crouposa dextra. Tuberculosis fibrocaseosa pulmonis dextri. Lymphadenitis tuberculosa tracheobronchialis. Aortitis chronica syphilitica. Degeneratio adiposa myocardii. Degeneratio adiposa et tuberculosis miliaris hepatis. Nephritis parenchymatosa. Splenitis acuta. Anaemia. Anasarca. Cicatrix penis. Ankylostomiasis.**

Microscopic examination: infiltration of lymphocytes in adrenal, capsule.

Histological verification of syphilis: Penis. Adrenals.

Adrenals: Infiltration of lymphocytes perivascular and in medulla.